NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

XPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

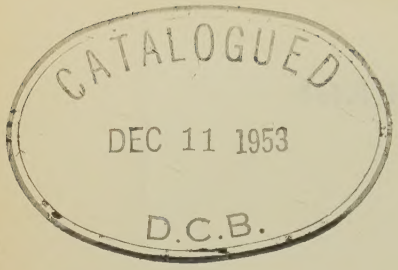
DR. W. HEUBNER
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
BERLIN

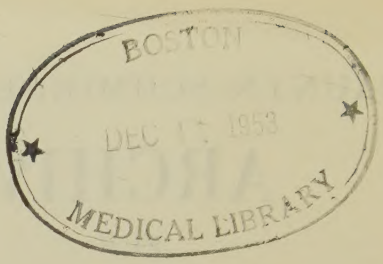
DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

218. BAND

MIT 147 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1953





Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg
Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH
Printed in Germany

Inhalt des 218. Bandes.

Seite

Barner-Brückner, G., s. **Marx, H.**

Bartmann, K., Versuche zur Gewöhnung an Gifte mit dem Pilz Neurospora crassa. Mit 1 Textabbildung 327

Bätge, J., und **H. Rohr,** Über die Wirkungsbedingungen des herzwirksamen Glykosides Transvaalin 375

Busse, W., und **L. Lendle,** Beeinflussung reflektorisch toxischer Digitaliswirkungen (Bradykardie und Erbrechen) durch Novocain und Ganglienblocker 159

—, —, Beeinflussung pharmakologischer Brechreaktionen durch Ganglienblocker, Spasmolytica, Novocain u. a. Mit 1 Textabbildung 169

—, **J. Wolf** und **L. Lendle,** Zur Frage des nervösen oder muskulären Angriffspunktes von darmwirksamen Pharmaka. (Nach Versuchen am TRENDELENBURGschen Präparat.) Mit 6 Textabbildungen 177

Eger, W., und **H. F. Geller,** Über den Einfluß der Nebenschilddrüsen auf die Phosphatasen der Nieren. Mit 4 Textabbildungen 222

Erdmann, W.-D., und **H. F. Henne,** Über spasmolytische Wirkungen am Sphincter Oddi. Mit 8 Textabbildungen 462

Franceschini, J., s. **Meli, A.**

Friede, R., Über die mutmaßliche Bedeutung des Melanins in der Substantia nigra. Mit 1 Textabbildung 286

Frimmer, M., Weitere Untersuchungen zur Bestimmung der reticuloendothelialen Clearance für Makromoleküle von P^{32}-markiertem Kalium-Natrium-Polyphosphat. II. Mitteilung. Mit 3 Textabbildungen 313

—, Über das Verhalten der reticulo-endothelialen Clearance nach Infusion kolloider Blutersatzflüssigkeiten. III. Mitteilung. Mit 4 Textabbildungen. 320

—, s. **Pfleger, K.**

Geller, H. F., s. **Eger, W.**

Ginzel, K. H., H. Klupp, H. Stormann und **G. Werner,** Hemmung des Patellarsehnenreflexes durch zentral und peripher wirkende Stoffe. Mit 3 Textabbildungen 308

Harth, O., R. Köhler und **W. Kreienberg,** Automatischer Sekretionsmesser für fortlaufende Registrierung. Mit 5 Textabbildungen 457

Heim, F., und **H. Wagner,** Über die „arterenergische" Natur durch Pendiomid (Pentamethylazapentylendäthyldiammoniumdibromid) nicht blokkierbarer sympathischer Nerven. Mit 2 Textabbildungen. 343

Henne, H. F., s. **Erdmann, W.-D.**

Heubner, W., und **M. Kramer,** Versuche zur Dursterzeugung durch Alkohole. Mit 2 Textabbildungen 335

Hinrichs, K., H. Poppe und **H. Steyer,** Untersuchungen der Verteilung, Resorption und Ausscheidung von etikettiertem Conteben. I. Mitteilung. Mit 3 Textabbildungen 193

Hornykiewicz, O., und **G. Niebauer,** Die Polyphenoloxydase des menschlichen Blutserums. Mit 5 Textabbildungen. 448

Seite

Klingmüller, V., und **W. Schroeder,** Untersuchungen von Eiweißkörpern, besonders des Corneaepithels, und analgetischen, nicht ionenaktiven Netzmitteln. I. Mitteilung. Mit 5 Textabbildungen 215

Klupp, H., s. **Ginzel, K. H., H. Stormann** und **G. Werner.**

Knoth, W., Beitrag zum Problem des Fett- und Lipoidstoffwechsels in Gewebekulturen. Mit 5 Textabbildungen 199

—, Untersuchungen mit dem Reduktionsindicator Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) an Organen des erwachsenen Meerschweinchens unter besonderer Berücksichtigung des alloxangeschädigten Pankreas. Mit 8 Textabbildungen 364

Köhler, R., s. **Harth, O.,** und **W. Kreienberg.**

Kramer, M., s. **Heubner, W.**

Kreienberg, W., s. **Harth, O.,** und **R. Köhler.**

Kuschke, H.-J., und **E. Westermann,** Zur Kenntnis der Kreislaufwirkung des Peripherin. Mit 4 Textabbildungen 385

Langecker, H., Die Verteilung von Sulfanilsäure und Sulfonamiden beim nierenlosen Hund. Ein Beitrag zu den Gesetzmäßigkeiten von Verteilungsvorgängen im Körper. Mit 1 Textabbildung 278

Lendle, L., s. **Busse, W.**

—, s. **Busse, W.,** und **J. Wolf.**

Ludwigs, N., und **M. Schneider,** Die Bronchienwirkung aralkylierter Adrenalin- und Adrenolonabkömmlinge. Mit 5 Textabbildungen 432

—, Über die Beziehungen zwischen Hubhöhe und Förderleistung am Froschherzen. Mit 4 Textabbildungen 443

Marx, H., und **G. Barner-Brückner,** Blutdruckreflexe bei Blockade der efferenten Reflexbahn. Mit 7 Textabbildungen 415

Meli, A., und **J. Franceschini,** Pharmakologische Untersuchungen über ein neues Hypnotikum 3-Cyclopropyl-butin-(3)-ol (2). Mit 1 Textabbildung. 427

Niebauer, G., s. **Hornykiewicz, O.**

Osswald, H., und **W. Rössel,** Zur Beeinflussung des hypoglykämischen Krampfes und Todes durch dihydrierte Mutterkornalkaloide (Hydergin). Mit 9 Textabbildungen 295

Pau, H., und **W. Rummel,** Histochemische Untersuchungen zur Frage der Linsenpermeabilität. Mit 4 Textabbildungen 349

Pfleger, K., und **M. Frimmer,** Weitere Untersuchungen über die reticuloendotheliale Clearance. Histochemischer Nachweis von Polyphosphat. IV. Mitteilung. Mit 2 Textabbildungen 479

Poppe, H., s. **Hinrichs, K.,** und **H. Steyer.**

Roesch, E., Studien zu den Reduktionsvorgängen in der belichteten Haut. Mit 2 Textabbildungen 394

Rössel, W., s. **Osswald, H.**

Rohr, H., s. **Bätge, J.**

Rummel, W., s. **Pau, H.**

Schäfer, P., Beeinflussung der Einheilung von Homotransplantaten durch Kastration. Sexualhormone und Hauttransplantation I. 483

Schimmler, W., Über die Wirkung des Prostigmins auf den arteriellen Kreislauf und den Sauerstoffverbrauch des Menschen. Mit 2 Textabbildungen 302

Schmidt, L., Die Wirkung verschiedener Theophyllin-Präparate bei der Bekämpfung des experimentellen Cheyne-Stokes. Mit 2 Textabbildungen. 290

Schneider, M., s. **Ludwigs, N.**

Schroeder, W., s. **Klingmüller, V.**

Seite

Schwab, M., Zur Methodik der Plasmavolumenbestimmung mit T-1824 („Evans Blau"). Mit 1 Textabbildung 251

—, Der Einfluß von Strophanthin auf das Plasmavolumen beim herzgesunden Menschen. Mit 1 Textabbildung 262

—, Der Einfluß von Strophanthin auf das Plasmavolumen beim herzinsuffizienten Menschen 271

Steyer, H., s. **K. Hinrichs** und **H. Poppe.**

Stille, G., s. **Wachter, H. P.**

Stormann, H., s. **Ginzel, K. H., H. Klupp** und **G. Werner.**

Trüpel, K. A., Strophanthinwirkungen auf die Rattenniere bei histochemischer Darstellung der Funktion. Mit 5 Textabbildungen 401

Verhandlungen der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft. 19. Tagung. Gehalten in Göttingen vom 4.—6. August 1952.
A. Eröffnungsansprache 1
B. Referate 3
C. Einzelvorträge 85
D. Demonstrationen 153

Wachter, H. P., und **G. Stille,** Die Schutzwirkung eines Leberhydrolysates (Prohepar) auf den Arsenobenzolschaden von Leber und Niere. Mit 2 Textabbildungen 355

Wagner, H., s. **Heim, F.**

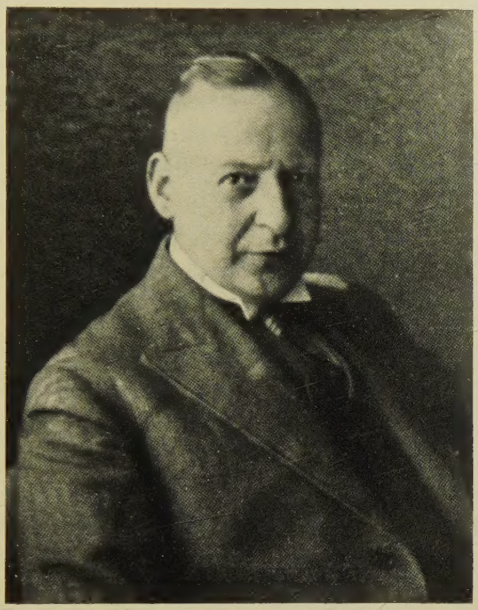
Werner, G., s. **Ginzel, K. H., H. Klupp** und **H. Stormann.**

Westermann, E., s. **Kuschke, H.-J.**

Wolf, J., s. **Busse, W.,** und **L. Lendle.**

Zetler, G., Sind Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin drei verschiedene Stoffe oder nur die Wirkungskomponenten eines einzigen Hormon-Moleküls? Mit 5 Textabbildungen 239

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. I—VIII (1953).



Prof. H. Freund

Zu Hermann Freunds Gedächtnis.

An dieser Stelle ist noch eine späte Ehrenpflicht zu erfüllen gegenüber unserem Fachkollegen Hermann Freund, dem früheren Ordinarius für Pharmakologie an der Universität Münster (Westf.). Seine Freunde und die Medizinische Fakultät Münster baten mich, obwohl ich selbst ihm nicht persönlich nahestand, um diesen Nachruf, weil ich 1936 sein Nachfolger wurde, nachdem er seinen Lehrstuhl 1933 hatte aufgeben müssen.

Meine Bemühungen um die Wiedervergegenwärtigung seiner Persönlichkeit und die Einarbeitung in seine Veröffentlichungen haben mir gezeigt, daß seine Gestalt und sein Lebenswerk in der neuen deutschen Pharmakologie eine entscheidende Stelle hätten einnehmen müssen, wenn es ihm vergönnt gewesen wäre, seine weitreichenden Planungen zum Ausreifen zu bringen. Er vertrat in der deutschen Pharmakologie eine eigene Richtung, indem er, vertraut mit den Ideen der pathologischen

Physiologie, seine experimentellen Arbeiten immer mit der Zielsetzung auf klinische Fragen ansetzte. Er konnte noch eine Pharmakologie für die Klinik (nicht „klinische Pharmakologie") experimentell betreiben und hat in Referaten und zusammenfassenden Darstellungen Möglichkeiten nach dieser Richtung gezeigt.

1. Lebensweg und Charakterbild.

Hermann Freund wurde am 11. August 1882 in Breslau als Sohn eines jüdischen Rechtsanwaltes geboren, der in seiner Heimatstadt eine angesehene Stellung als Ehrendoktor der dortigen Juristischen Fakultät und Ehrenbürger der Stadt sowie als Stadtverordnetenvorsteher innehatte. Seine Jugendzeit dürfte nicht von Sorgen des Eltenhauses überschattet gewesen sein. Das Studium der Chemie und Medizin konnte er 1906 mit der Promotion zum Dr. phil. und 1909 zum Dr. med. erfolgreich abschließen. Seine erste wissenschaftliche Ausbildung fand Freund an der Klinik von Ludolf Krehl in Heidelberg ab 1909.

Im Kriege 1914—18 konnte Freund aus Gesundheitsgründen nicht ärztlich eingesetzt werden. Er fand aber als Oberarzt der Krehlschen Klinik damals ein reiches Feld der Betätigung und sammelte klinische Erfahrungen, die ihn später zu den entscheidenden Fragestellungen führten. Die Hochschullaufbahn begann er 1916 als Dozent der Inneren Medizin in Heidelberg, fand aber dald Verbindung zum dortigen Pharmakologischen Institut unter Gottlieb und wechselte schließlich ganz in dieses Fach mit der Erweiterung der Venia legendi auf Pharmakologie im Jahre 1919 über. 1922 erfolgte seine Ernennung zum außerordentlichen Professor, 1925 erhielt er die Berufung als Leiter des unter seiner Planung im Bau befindlichen Pharmakologischen Instituts in Münster (Westf.). Fast 10 Jahre war er dort im Amt, erwarb Ansehen und Freunde und ging selbständig seine eigenen Forschungswege.

Bis dahin bezeugen diese Daten einen begünstigten Lebensweg ohne Komplikationen: Freund kam aus großbürgerlicher Welt, besaß ein Vermögen, das auch die Inflationszeit überstand, war daher unabhängig in der Wahl seiner Lehrer und seiner wissenschaftlichen Interessen. Auch seine Laufbahn bis zur Erreichung eines selbständigen Ordinariats war nicht gehemmt; Leistungen und Fürsprache ebneten ihm den Weg und erwarben ihm das Vertrauen der Fakultät in Münster. Die Zeit nach dem 1. Weltkrieg stellte seine Lebensauffassung oder gar Existenz nicht in Frage. Wie vorher konnte er weiter seinen vielfachen Interessen nachgehen und an der großen Kulturentwicklung seiner Zeit teilhaben. Er fühlte sich ganz dem deutschen Wesen, insonderheit seiner Heimatstadt verbunden, hing wie sein Vater der Deutschen Volkspartei an und ahnte

nicht, daß die NS-Ideologie sich über alle von ihm selbst betonten Unterschiede von eingedeutschtem Judentum und ostjüdischer Einwanderung hinwegsetzen werde. Dieser verhängnisvolle Irrtum bewog ihn auch, in Münster zu bleiben, obwohl ihm genug Wege ins Ausland freigestanden hätten. In den ersten Jahren versuchte man Freund auch tatsächlich zu schonen, da er den Ministerialstellen als integre Persönlichkeit und bedeutender Wissenschaftler bekannt war. Auch die Fürsprache seiner Studenten verlieh ihm einen gewissen Schutz. Aber der Druck des Parteiterrors zwang ihn doch bald aus dem Amt und aus dem Umkreis seiner Freunde in die Vereinsamung, wo ihn in seiner stillen Wohnung am Rande des Friedhofs Kollegen und Freunde nur noch im Dunkeln aufzusuchen wagten. Er trug sein Schicksal mit erstaunlicher Gelassenheit, aber wohl noch immer in trügerischem Optimismus. Erst nach Kriegsausbruch verließ er im Herbst 1939 — ohne Vermögen — Münster und ging nach Holland. Sein Abschied wurde bekannt, und man hörte Worte der teilnehmenden Achtung, auch aus dem Munde parteigebundener Bekannter. Später wurde erzählt, daß er nach der Besetzung Hollands zunächst in einem Internierungslager als Arzt arbeiten konnte. Im Sommer 1944 wurde er aber mit vielen Stammesgenossen nach Theresienstadt (Tschechoslowakei) überführt. Er war also unrettbar in das allgemeine Schicksal des Judentums geraten.

Erst nach dem Kriege erfuhr man über seinen Bruder, Professor W. Freund, das letzte Schicksal. Hermann Freund wurde im Herbst 1944 nach dem Lager Mauthausen verbracht, „wo er an einer infolge Verletzung am Fuß entwickelten Phlegmone eines ruhigen Todes gestorben" sein soll.

So endete das Leben eines Menschen von hoher Kultur und von Reichtum an Gaben der Persönlichkeit nicht in jähem tragischem Sturz- sondern versinkend in menschliche Vereinsamung und Armut des äußeren Daseins. Möge er unter seinen Glaubensgenossen die Kraft des Erduldens gefunden haben, die ihn vor dem Erliegen in Verzweiflung bewahrte.

Seinen Freunden wird sein Wesen im Gedächtnis bleiben, wie er es in den schaffensfreudigen Jahren seiner Professur in Münster entfalten konnte und wie er auch den jüngeren Kollegen von seinen Kongreßbesuchen her noch in Erinnerung sein wird: Ein lebensfroher, kluger und kritischer, stets selbstlos hilfsbereiter Mensch, der in seiner wirtschaftlichen Unabhängigkeit sich auch eine selbständige Freizügigkeit des Denkens bewahrt hatte. Aufgeschlossen für alle Fragen der medizinischen Wissenschaft bis in das Gebiet der Homöopathie und Volksmedizin, immer praktisch interessiert, den Menschen, insbesondere der Jugend, in Güte und Wohlwollen verbunden, um Vertrauen werbend und Vertrauen schenkend. Und wenn Kritik und Spott ihm über die Lippen

gingen, dann war dies mehr ein geistreiches Gedankenspiel als der Ausbruch von Neid, Haß oder Resignation, denn er war ein unabhängiger und freier Charakter.

2. Werk des Forschers.

H. Freund begann seine wissenschaftliche Tätigkeit in einem denkbar günstigen Zeitpunkt, als Krehl die experimentelle Grundlage seiner berühmten Pathophysiologie mit einem Kreis ideenreicher und selbständiger Mitarbeiter ausbaute. Freund trat mitten in den zentralen Fragenbereich der Fieberentstehung und Wärmeregulation hinein und konnte gemeinsam mit anderen[1, 2, 3] durch operative Eingriffe zeigen, welchen Verlauf die für die Wärmeregulation und Fieberfähigkeit erforderlichen Nervenbahnen zur Peripherie nehmen und daß diese Regulationen bei voller Curarisierung noch erhalten bleiben, also nicht allein an den Muskelstoffwechsel gebunden sind. Diese Forschungen führten naturgemäß zu weiteren Stoffwechselproblemen. Gemeinsame Untersuchungen[4–6] lehrten, daß eine erhöhte Eiweißverbrennung bei diesen Fiebervorgängen beteiligt ist und daß auch diese Stoffwechselvorgänge einer Steuerung durch das zentrale Nervensystem unterliegen. „Wärmeregulation und Eiweißumsatz" im Fieber und bei Infektionen war das Thema seiner folgenden Arbeiten[7–9].

Mit diesen Problemen verknüpften sich höchst sinnvoll weitere Studien über die Entstehung von Zellzerfallsgiften. Der Ursprung dieser Fragen liegt auch schon in den ersten Heidelberger Jahren beim Studium der Fieberwirkung von Injektionen defibrinierten Blutes[10, 11]. Die Analyse dieser Wirkung von „Gerinnungsgiften" erfolgte erst 1920[12, 13]. Freund unterschied ein flüchtiges „Frühgift" mit blutdrucksenkender, gefäßerweiternder Wirkung von einem stabilen „Spätgift" mit blutdrucksteigernder, adrenalinartiger Wirksamkeit. Die Entstehung dieser Stoffe wurde auch bei Gerinnungsverhütung im Zitratblut nachgewiesen und durch eine mechanische Zerstörung der Blutplättchen erklärt.

In kühner Kombination vermutete Freund sogleich, daß solche Zerfallsgifte bei Infektionen, im Fieber und bei der Proteinkörpertherapieeine Rolle spielen könnten. Es folgten nun systematische Arbeiten „zur unspezifischen Reiztherapie"[14–17], in denen die Wahrscheinlichkeit der Beteiligung von Zellzerfallshormonen und die Existenz einer Umstimmung (der Empfindlichkeit gegen autonome Gifte) aufgezeigt wurden[16–18].

Es ist sehr eindrucksvoll zu sehen, mit welcher gedanklichen Folgerichtigkeit alle diese Arbeiten aufeinander bauen, und auch die Logik der Beweisführung in den Einzelanalysen erscheint fast selbstverständlich, vielleicht gelegentlich überzeugender durch die physiologische

Wahrscheinlichkeit als durch das experimentelle Material. Die Anerkennung für diese große Gesamtleistung fand Freund in dem Auftrag zu Handbuchbeiträgen und größeren Referaten vor dem Pharmakologenkongreß 1926 über „pharmakologische Probleme der Proteinkörpertherapie“[19] und 1930 über „pharmakologische Probleme der fieberhaften Entzündung“[20]. Hier konnte er mit einer großen Souveränität in der Behandlung des Stoffes sprechen.

Freund suchte nach seinen experimentellen Ergebnissen die Wirkungen der Proteinkörpertherapie auf Veränderungen im intermediären Stoffwechsel zurückzuführen und faßte diese Therapie als Einzelfall sonstiger Umstimmungsreaktionen im Sinne verstärkter Abwehrvorgänge auf.

Auch das Fieber erscheint ihm nur als ein mit den Abwehrvorgängen verknüpftes Symptom. „Das Fieber ist der Indicator dafür, daß durch Abwehrtätigkeit Stoffe entstanden sind, welche an den wärmeregulatorischen Zentralfunktionen zu Temperatursteigerungen führen.“ Im Zusammenhang damit stellt er die verschiedenen Pharmaka, welche die Körpertemperatur erhöhen oder erniedrigen, nach ihrer Wirkungsweise zur Diskussion. Für die Antipyretika sprach er sich kritisch gegen die Vorstellung aus, daß sie allein die im Fieber erregten Wärmeregulationsvorgänge narkotisch dämpfen sollen.

Die Zusammenhänge der zentralnervösen Regulation von Stoffwechsel und Körpertemperatur und die Eingriffe von intermediären Zellzerfallsprodukten als „pyrogene Stoffe“ wurden meisterhaft vorgetragen in ihrer Problematik und Bedeutung für Pathophysiologie und Klinik. Das Referat ist ideenreich, kritisch und in den Begriffen wohl abgewogen, es legt nichts dogmatisch fest und gibt eine Fülle von Anregungen.

Freund fand aus diesem Arbeitsgebiet heraus selbst neue Fragestellungen, deren Bearbeitung die letzten Jahre seiner Tätigkeit im Münsterschen Institut erfüllten. Zunächst konnte er durch seinen Schüler K. Zipf (später Ordinarius der Pharmakologie in Königsberg) die Frage der chemischen Natur des Frühgiftes der Gerinnung einer Klärung zuführen lassen[21–23]. Das sogenannte Frühgift erwies sich nach ersten Vermutungen auf Grund gleichartigen biologischen Verhaltens, aber später auch nach direkter chemisch präparativer Gewinnung als Adenylsäure. Das Spätgift wurde von Freund und jüngeren Mitarb.[24] noch nicht chemisch mit Sicherheit identifiziert. Es entspricht aber völlig dem Tyramin in seinem pharmakologischen Verhalten. So konnten auch aus Blut von Menschen und Kaninchen, die Spätgift enthalten mußten, tyraminartige Stoffe chemisch nachgewiesen werden, so daß diese Hypothese mindestens sehr wahrscheinlich geworden ist.

Für die Fiebersenkung durch Stoffe vom Typ des Antipyrins entwickelte Freund[25] eine neue Vorstellung der Wirkungsweise in Analogie zu der „Kühlwirkung“ von Krampfgiften, für welche die Wiener Pharmakologenschule die Erregung eines besonderen Kühlzentrums angenommen hatte. Das Antipyrin wirkt nämlich in toxischer Dosierung nicht narkotisch, sondern krampferregend. Diese Hypothese hat gerade in den letzten Jahren durch Hahn u. Mitarb.[26] eine gewisse

Bestätigung gefunden, weil man diese Antipyrese verhüten kann, wenn man die Versuchstiere mit Veronal in Dosen, die selbst noch unwirksam auf die Körpertemperatur sind, vorbehandelt. Über die analgetische Wirkung solcher Antipyretika in Kombination mit anderen Stoffen hat Freund[27] eine große Anzahl von Dissertationen herstellen lassen. Es wurde dabei die Abnahme der subjektiven Schmerzempfindung beim Menschen bei Ermittlung des elektrischen Schwellenreizes der Zahnpulpa als Maß der Wirkung benutzt.

Seit 1930 etwa beschäftigten sich Freund[28, 29] und Mitarb.[30, 31] mit Fragen des Muskeltonus unter dem besonderen Gesichtspunkt des Muskelstoffwechsels. Neben den bekannten phylogenetischen Unterschieden der tonischen Eigenschaften des Muskels fanden sie, daß auch bei fötalen Muskeln vor Entwicklung der Endplatte ebenso wie bei denervierten Muskeln tonische Reaktionsmöglichkeiten vorherrschen. Dies ließ sich besonders im Verhalten zu Kontrakturgiften (Nicotin, Acetylcholin) nachweisen.

Die Bearbeitung weiterer muskelpharmakologischer Fragen[32–34] führte Freund wieder auf spezielle Stoffwechselprobleme. Der intermediäre Zellstoffwechsel als Angriffspunkt spezieller Gifteinwirkungen und die Abhängigkeit pharmakologischer Reaktionen vom intermediären Stoffwechsel im Sinne einer Umstimmung der Empfindlichkeit wurden nun als Zielpunkte der experimentellen Untersuchung ins Auge gefaßt. Umfangreiche Ergebnisse, die vorwiegend in Dissertationsarbeiten veröffentlicht waren, wurden von ihm in einer größeren Studie zusammengefaßt, die er noch nach seiner Entlassung zusammenstellen konnte und als letztes Werk veröffentlichte[35]. Ein Rechenschaftsbericht und ein Programm zugleich! Er konnte zeigen, daß auch Gifte mit wohl differenziertem Angriffspunkt in gleicher Weise an anderen Organen die intermediären Stoffwechselvorgänge beeinflußten. Als besonders wichtig wurde auch an zahlreichen Beispielen gezeigt, daß Wirkungsstärke und -Richtung (Erregung oder Hemmung) von der Stoffwechsellage des Organs abhängig sein können. Eine systematische und einheitliche Durchleuchtung dieser Fragen scheint aber Freund nicht mehr gelungen zu sein. Die Aufgabe war zu groß und nicht mit einigen standardisierten Stoffwechselmethoden (Milchsäurebildung und Kohlenhydratabbau) in großen Serienversuchen durch Doktoranden kritisch genug lösbar. Wir müssen dankbar sein, daß Freund selbst noch die Gelegenheit gefunden hat, das sonst vielleicht vergessene Versuchsmaterial auszuwerten und die allgemeine Richtung der Problematik daraus abzuleiten.

Blickt man nun von diesem erzwungenen Endpunkt einer erfolgreichen Forschungsarbeit zurück auf das Gesamte und Bleibende der Leistung, so kann man dies mit der gebührenden Kritik tun, nachdem nun 2 Jahrzehnte verstrichen sind. Die frühesten experimentellen Erfahrungen über zentralnervöse Regulationen von Körpertemperatur und Stoffwechsel sind wohl im allgemeinen anerkannt in die Lehrbücher der

Pathophysiologie eingegangen. Die Auffassung der Reizkörpertherapie als einer Umstimmung durch Zellzerfallshormone dürfte auch eine entscheidende Deutungsrichtung gegeben haben, aber die chemische Beweisführung dafür blieb liegen. Die Klärung der „Früh- und Spätgifte der Gerinnung" zeigte wohl für einen Teilausschnitt eine solche Möglichkeit. Für das Gebiet der Entzündung und Abwehrbereitschaft sind übrigens heute die Fragestellungen — auch chemisch erfolgreicher — mehr nach der Richtung auf Nebennierenstoffe, Hypophyse und Selyes „Alarmreaktion" verschoben worden. Die weitere Forschungsrichtung Freunds auf eine Pharmakologie der intermediären Stoffwechselwirkung war — soweit sie die spezielle Muskelpharmakologie betraf — wohl erfolgreich, aber die breitere Behandlung des Gebietes brachte über wichtige Anregungen hinaus keine genügend kritisch begründeten Ergebnisse mehr.

Es war Freund nicht vergönnt, eine große Schule von selbständigen Mitarbeitern zu begründen, die sein Erbe weitertrugen und seine vielen Ideen kritisch bearbeiteten. Die Jahre seiner höchsten Fruchtbarkeit (1918—1930) lagen vor seinem 50. Lebensjahr, als er noch selbst in der Laboratoriumsarbeit stand.

Vom Fach der Pharmakologie aus muß es aufrichtig bedauert werden, daß diese von Freund aufgenommene Forschungsrichtung, die wohl über den Rahmen der üblichen Pharmakologie hinausführte, nicht fortgesetzt wurde. Natürlich wären hier neue methodische Erfahrungen einzusetzen und wären viele Fragen heute nur in Arbeitsgruppen — wie es ja schon im Umkreis von Krehl möglich war — mit klinischen Forschern zu bearbeiten. Wer aber heute Pharmakologie des intermediären Stoffwechsels im Sinne einer pharmakologischen Wirkungsanalyse und Klärung patho-physiologischer Verhältnisse betreibt, der sollte Hermann Freunds Lebenswerk nicht vergessen. Beim Studium seiner Arbeiten wird er vielseitige Anregungen finden.

Literatur.

[1] Freund u. Strassmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **69**, 12 (1912). — [2] Freund u. Grafe: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **70**, 135 (1912). — [3] Freund u. Schlaginweit: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **77**, 258 (1914). — [4] Freund u. Marchand: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **73**, 276 (1913). — [5] Freund u. Schlaginweit: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **76**, 305 (1914). — [6] Freund u. Grafe: Pflügers Arch. **168**, 1 (1917). — [7] Freund u. Grafe: Dtsch. Arch. klin. Med. **121**, 36 (1916). — [8] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **88**, 216 (1920). — [9] Freund u. Laubender: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **99**, 131 (1923). — [10] Freund: Dtsch. Arch. klin. Med. **105**, 44 (1911). — [11] Freund: Dtsch. Arch. klin. Med. **106**, 556 (1912). — [12] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **86**, 266 (1920). — [13] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **88**, 39 (1920). — [14] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **91**, 272 (1921). — [15] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **91**, 317 (1921). — [16] Freund u. Gottlieb: Arch. exper.

Path. u. Pharmakol. **93**, 92 (1922). — [17] Freund u. Gottlieb: Münch. Med. Wschr. **1921**, Nr. 13, 383. — [18] Freund u. Fr. Rupp: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **99**, 137 (1923). — [19] Kongreßberichte d. VI. Tagung Dtsch. Pharm. Ges. in Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **119**, 16 (1927). [20] Kongreßberichte d. X. Tagung Dtsch. Pharm. Ges. in Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **157**, 41 (1930). — [21] Zipf, K., u. Wagenfeld: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **150**, 70, 91 (1930). — [22] Zipf, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 579 (1931). — [23] Zipf, K.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **44**, 70 (1932). — [24] Freund, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 189 (1936). — [25] Freund, H.: Hdb. d. normalen und path. Physiol. **17**, 86, Berlin 1926. — [26] Hahn, Fr., u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 104 (1950). — [27] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 209 (1936). — [28] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **147**, 85 (1930). — [29] Freund: Klin. Wschr. **1932**, 137. — [30] Rückert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **157**, 122 (1930). — [31] Rückert: Pflügers Arch. **226**, 332 (1931). — [32] Haarmann, W.: Biochem. Z. **255**, 103 (1932). — [33] Schönfelder, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 24 (1936). — [34] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 224 (1936). — [35] Freund: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 416 (1936).

L. Lendle.

A. Eröffnungsansprache zur 19. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft

in Göttingen vom 4. — 6. August 1952.

F. Hildebrandt (Gießen): Hiermit eröffne ich die 19. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft und begrüße zunächst die Ehrengäste, den Rektor und den Kurator der Universität Göttingen und die Vertreter der Stadt.

Nach kurzen Ansprachen der drei Ehrengäste dankt der Vorsitzende denselben für die Einladung und die freundliche Aufnahme in Göttingen.

Anschließend fährt er fort:

Meine Damen und Herren! Im Namen des Vorstandes der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft heiße ich Sie alle herzlichst willkommen. Die überaus starke Teilnahme an unserer Tagung auch von Nichtpharmakologen beweist das rege Interesse, das auch andere uns verwandte Fächer uns entgegenbringen. Es ist auch ein Beweis dafür, daß wir mit den aktuellen Themen, die wir zum Vortrag und zur Diskussion gestellt haben, das Richtige getroffen haben.

Zunächst danke ich vor allem unserem Gastgeber, Herrn Lendle, der in vorbildlicher Weise die internen Vorbereitungen zu unserer Tagung geleistet hat. Ich weiß aus eigener Erfahrung, daß dies viel Arbeit, Zeit und Mühe kostet, und der reibungslose Verlauf einer Tagung hängt nicht zum mindesten gerade von diesen Vorarbeiten ab. Ich bin überzeugt, daß wir alle nach Abschluß der Tagung hochbefriedigt und voll Dankbarkeit gegenüber Herrn Lendle sein Institut und die gastliche Stadt Göttingen verlassen werden.

Eine besondere Freude ist es für uns, daß auch zahlreiche Ausländer an unserer Tagung teilnehmen. Ich heiße die Herren aus Ägypten, Dänemark, England, Italien, Jugoslawien, Österreich, Schweden, der Schweiz, der Türkei und den USA herzlich willkommen. Trotz der Abschließung durch den „Eisernen Vorhang" sind auch eine ganze Reihe von Herren aus der Ostzone erschienen, denen mein besonderer Gruß gilt. Wir alle hoffen, daß diese unglückselige Teilung Deutschlands baldigst durch eine friedliche Lösung beseitigt werden wird, ebenso wie es unser von Herzen kommender Wunsch ist, daß ein friedliebendes vereintes Europa in Ruhe seinen kulturellen Aufgaben sich in vollem Umfang wird widmen können.

Daß der Nestor unseres Faches, unser allverehrtes Ehrenmitglied, Herr Professor Heubner, in altgewohnter Frische ebenfalls unter uns weilt, ist für uns alle eine große Freude. Anläßlich seines 75. Geburtstages, den er vor kurzem feierte, wurden ihm zahlreiche Ehrungen zuteil, darunter auch der Ehrendoktor der Medizinischen Fakultät in Göttingen, mit der er durch seine frühere Tätigkeit als Lehrstuhlinhaber unseres Faches hier in dieser schönen, altehrwürdigen Stadt ganz besonders verbunden ist.

Grüße sind von unseren Ehrenmitgliedern Dale, Pick und Rost eingetroffen, die leider an der Teilnahme verhindert sind und erfolgreiche Tagung wünschen.

In diesem Jahr haben wir nur einen Toten zu beklagen: Kurt H. Meyer, der als Sohn des Altmeisters der Pharmakologie, Hans Horst Meyer, unserer Gesellschaft immer größtes Interesse entgegengebracht hat, auch wenn er kein Fachpharmakologe, sondern Chemiker war. Die Gesellschaft wird ihm stets ein ehrendes Gedenken bewahren.

Unser diesjähriges Programm ist vielseitig, und ich habe vor allem den Herren Referenten zu danken, die aus verwandten Disziplinen und auch aus dem Ausland sich für Vorträge zur Verfügung gestellt haben: So Frau MEYER-SCHÜTZMEISTER aus Göttingen, Herrn BUCHER aus Basel, Herrn BRÜCKE aus Wien und Herrn UNNA aus Chikago, ebenso Herrn LOESER, Münster.

Daß neben den Referenten auch zahlreiche jüngere Pharmakologen Vorträge angemeldet haben, ist sehr begrüßenswert. Ist es doch unsere Aufgabe, gerade auch die jüngeren Herren im Interesse des Nachwuchses zu Worte kommen zu lassen und auf diese Weise ihre wissenschaftlichen Leistungen kennenzulernen.

Das Programm ist, wie schon erwähnt, vielseitig und sehr dicht besetzt, und es dürften an die Leistungsfähigkeit unserer Ganglienzellen so erhebliche Anforderungen gestellt werden, daß dieselben nicht mehr als physiologisch bezeichnet werden können, und daß es beinahe notwendig erscheint, pharmakologisch hier einzugreifen und durch Medikamente eine Leistungssteigerung zu erzielen.

Es wird allgemein über die Häufung von Kongressen, Tagungen und Fortbildungskursen geklagt. Unsere Gesellschaft macht in dieser Beziehung eine rühmliche Ausnahme, da unsere Tagungen nur einmal im Jahr stattfinden und sich, bisher wenigstens, keine Expansionsbestrebungen bemerkbar gemacht haben. Es wäre aber vielleicht doch erwägenswert, die Sitzungen nicht über praktisch den ganzen Tag auszudehnen, damit auch die Möglichkeit zu persönlichem intimeren Gespräch etwas mehr zur Geltung käme, was ja letzten Endes mit der Hauptzweck derartiger Tagungen ist.

Lassen Sie mich mit diesen kurzen Begrüßungsworten schließen, damit wir im Interesse einer glatten Abwicklung unseres Programmes an die Arbeit gehen können, die hoffentlich für uns alle Erfolg und Befriedigung bringen wird.

B. Referate.

L. Meyer-Schützmeister (Göttingen): Physikalische Grundlagen beim Arbeiten mit radioaktiven Isotopen.

Mit 6 Textabbildungen.

1. Einleitung.

Da die radioaktiven Isotope sowohl in der Wissenschaft als auch in der Industrie in steigendem Maße Anwendung finden, hat die Frage nach den physikalischen Grundlagen beim Arbeiten mit radioaktiven Isotopen heute große Bedeutung. Ich will versuchen, das notwendigste Rüstzeug zu geben, das für das Arbeiten selbst und für die Auswählung der zur Untersuchung geeigneten radioaktiven Isotope erforderlich ist. Dabei soll das wichtigste Problem, das mit den radioaktiven Isotopen verbunden ist, nicht vergessen werden: die Anwendung der richtigen Schutzmaßnahmen.

2. Stabile und radioaktive Isotope.

Zunächst möchte ich einige Grundtatsachen der Radioaktivität in Erinnerung bringen:

Jedes Atom wird durch die Zahl der Protonen Z und die Zahl der Neutronen N charakterisiert, die sich in seinem Atomkern befinden. Z wird im allgemeinen die Ordnungszahl genannt; sie bestimmt sowohl das Element und damit die Stellung im periodischen System als auch die Zahl der Elektronen, die den Kern in der Elektronenhülle umkreisen. Die Neutronen und die Protonen haben eine etwa gleich große Masse. Da man ihnen die Massenzahl 1 zuordnet, beträgt die Massenzahl eines Kernes mit Z Protonen und N Neutronen:

$$A = Z + N$$

Für jedes Element kennt man mehrere Atomkerne mit unterschiedlicher Neutronenzahl. Diese verschiedenen Atomarten eines Elementes nennt man Isotope. Diese sind keineswegs alle stabil, die meisten sind radioaktiv, zerfallen also und gehen dabei in ein anderes Element über. Als Beispiel sind die stabilen und die gut bekannten radioaktiven Isotope des Eisens in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. *Die stabilen und radioaktiven Isotope des Eisens.*

Symbol	$^{52}_{26}Fe$	$^{53}_{26}Fe$	$^{54}_{26}Fe$	$^{55}_{26}Fe$	$^{56}_{26}Fe$	$^{57}_{26}Fe$	$^{58}_{26}Fe$	$^{59}_{26}Fe$
Ordnungszahl .	26	26	26	26	26	26	26	26
Neutronenzahl .	26	27	28	29	30	31	32	33
Massenzahl . .	52	53	54	55	56	57	58	59
Häufigkeit in %	rad. akt.	rad. akt.	5,81	rad. akt.	91,64	2,21	0,34	rad. akt.
Halbwertszeit T	7,8 h	8,8 m		2,95 a				46 d

Als Atomgewicht eines Elementes bezeichnet man das mittlere Atomgewicht aller stabilen Isotope unter Berücksichtigung ihrer relativen Häufigkeiten. Für Eisen beträgt z. B. das Atomgewicht 55,85.

Isotope zeigen, da sie ja zum gleichen Element gehören, dieselben chemischen Reaktionen. Sie sind deshalb auf chemischem Wege nicht voneinander zu unterscheiden. Da aber die radioaktiven Isotope beim Zerfall in ein anderes Element übergehen und dabei eine Strahlung aussenden, die im allgemeinen leicht beobachtet werden kann, sind sie im Gegensatz zu den stabilen Isotopen gut nachweisbar. Meist lassen sich auch bei einem Gemisch vieler verschiedener radioaktiver Isotope einzelne gut erfassen, da die von ihnen emittierten Strahlungen recht große Unterschiede aufweisen können. Auf diese Unterschiede wollen wir im folgenden Abschnitt näher eingehen.

3. Die charakteristischen Eigenschaften radioaktiver Isotope.

Als erstes Kennzeichen einer radioaktiven Substanz betrachten wir ihre Halbwertszeit. Anschließend wollen wir die verschiedenen Zerfallsarten besprechen, wobei insbesondere die Eigenschaften der dabei freiwerdenden Strahlungen diskutiert werden sollen.

a) Halbwertzeit T.

Von N radioaktiven Atomen sollen dN Atome in der Zeit dt zerfallen. Es gilt dann die Gleichung:

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N. \tag{1}$$

λ wird die Zerfallskonstante genannt. Durch Integration dieser Gleichung erhält man:

$$N = N_0 e^{-\lambda t}. \tag{2}$$

Hierbei ist N_0 die zur Zeit O, N die zur Zeit t vorhandene Anzahl radioaktiver Atome. Da die Halbwertszeit T als die Zeit definiert ist, in der die Hälfte der Atome zerfällt, gilt

$$\frac{N_0}{2} = N_0 e^{-\lambda T} \text{ und damit } T = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0{,}693}{\lambda}. \tag{3}$$

Nach einer Zeit von n Halbwertszeiten ist die Zahl N_0 dementsprechend auf $(\frac{1}{2})^n$ abgefallen.

Um ein Beispiel zu geben, warum die Größe T beim Arbeiten mit radioaktiven Substanzen wichtig ist, nehmen wir an, es sollen Untersuchungen mit radioaktivem Si durchgeführt werden. Die größte Halbwertszeit bei den bekannten radioaktiven Si-Isotopen beträgt 2,59 Std, sie gehört zum Si^{31}. Wenn man nicht gerade die Versuche am Herstellungsort des Isotopes vornehmen kann, wird man für den Transport und die notwendigen Vorbereitungen bis zur ersten Messung eine Zeit von etwa einem Tag ansetzen müssen. Das bedeutet aber, daß rund 10 Halbwertszeiten vergehen und die Zahl der noch vorhandenen Si^{31}-Atome

nur noch ca. $^1/_{1000}$ des ursprünglichen Wertes beträgt. Bei der Auswahl des geeigneten radioaktiven Isotopes für die durchzuführenden Untersuchungen ist deshalb zunächst auf eine passende Halbwertszeit zu achten.

b) α-Zerfall.

Diese Zerfallsart ist bei den natürlichen radioaktiven Isotopen recht häufig. Bei ihr sendet der Ausgangskern X ein α-Teilchen aus und geht dabei in den Endkern Y über.

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{4}_{2}\alpha + {}^{A-4}_{Z-2}Y \qquad \text{(I)}$$

Die emittierten α-Teilchen haben eine einheitliche Energie, die zwar von der jeweiligen Umwandlung abhängt, aber in der Größenordnung von einigen MeV liegt. Diese Energie wird rasch wieder abgegeben, da die α-Teilchen mit der Materie, die sie durchlaufen, in starker Wechselwirkung stehen. Sie haben deshalb eine kleine, aber einheitliche Reichweite. Die Reichweite in Al beträgt z. B. für α-Teilchen mit 2 MeV Energie etwa 6 μ.

c) β-Zerfall.

Dieser Umwandlungstyp ist nicht nur bei den natürlichen, sondern auch bei den künstlich radioaktiven Isotopen recht häufig. Wir können uns den Zerfall etwa so vorstellen, daß innerhalb des Atomkernes ein Neutron in ein Proton umgewandelt wird, wobei ein Elektron den Kern verläßt. Solche vom Kern emittierten Elektronen nennt man β-Teilchen. Das Umwandlungsschema heißt also:

$$^{A}_{Z}X \rightarrow \beta^- + {}^{A}_{Z+1}Y. \qquad \text{(II)}$$

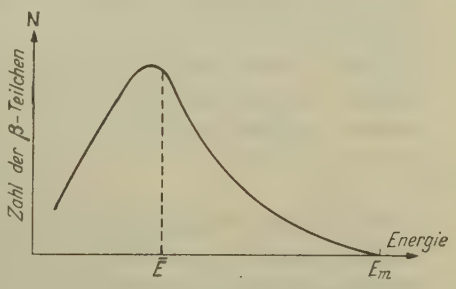


Abb. 1. Energiespektrum von β-Teilchen. E_m Maximalenergie, $\bar{E}$ mittlere Energie.

Im Gegensatz zu den α-Teilchen werden die β-Teilchen nicht alle mit der gleichen Energie emittiert, sondern besitzen eine Energieverteilung, wie sie schematisch in Abb. 1 angegeben ist. Charakteristisch für ein bestimmtes β-Spektrum ist die Maximalenergie E_m. Die mittlere Energie $\bar{E}$ des gesamten β-Spektrums beträgt nach einer Faustregel etwa $E_m/3$. Obwohl die Energie der β-Teilchen nicht einheitlich ist, muß man annehmen, daß Ausgangs- und Endkern ganz bestimmte Energieinhalte haben, die durch die Massen der im Kern enthaltenen Neutronen und Protonen gegeben sind abzüglich der Bindungsenergie, mit der die Neutronen und Protonen in dem betreffenden Atomkern zusammengehalten werden. Zur Veranschaulichung dieses Sachverhaltes sind auf einer Energieskala die Energieinhalte des Ausgangs- und des Endkernes (E_A und E_E)

eingetragen (Abb. 2). Die Energiedifferenz ΔE zwischen beiden Kernen entspricht der Wärmetönung der Umwandlung, die gleich der Maximalenergie des β-Spektrums ist. Allgemein versetzt man bei der Darstellung solcher Zerfallsschemata den Folgekern, falls er eine höhere Ordnungszahl als der Ausgangskern besitzt, nach rechts, falls er eine niedere hat, nach links.

Die Energieverteilung der β-Teilchen findet dadurch ihre Erklärung, daß beim β-Übergang nicht nur das β-Teilchen, sondern ein weiteres Teilchen, das Neutrino, emittiert wird. Dieses Neutrino ist ein ungeladenes Teilchen mit einer Masse, die sehr viel kleiner ist als die des β-Teilchens. Die kinetische Energie beider Teilchen zusammen ergibt E_m. Falls also der Kern ein β-Teilchen mit einer Energie emittiert, die kleiner ist als E_m, so übernimmt das Neutrino die restliche Energie.

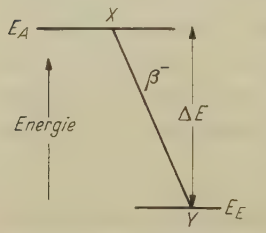


Abb. 2. Zerfallsschema eines reinen β^--Strahlers: $X \rightarrow \beta^- + Y$; Maximalenergie $E_m \approx \Delta E$.

Beim Durchlaufen der Materie werden die β-Teilchen wegen ihrer kleineren Masse und Ladung nicht so stark gebremst wie die α-Teilchen. Ihre Reichweite ist daher größer. Sie ist aber nicht einheitlich und man definiert zunächst eine Maximalreichweite R_m, die jedoch nur von einem sehr kleinen Teil der β-Teilchen annähernd erreicht wird. Praktische Bedeutung für das Arbeiten mit β-Strahlern hat jedoch die Halbwertsdicke D. Sie gibt die Materialdicke an, die noch die Hälfte der vom Kern emittierten β-Teilchen hindurchläßt. Als Faustregel kann man sich merken, daß D ungefähr $^1/_{10}\, R_m$ ist. Als Beispiel wollen wir einen β-Strahler mit einer Maximalenergie von 2 MeV betrachten. Für ihn beträgt in Al R_m 3,5 mm und D etwa 0,35 mm.

d) β^+-Zerfall.

Bei dieser Zerfallsart wird innerhalb des Kerns ein Proton in ein Neutron umgewandelt, wobei ein positives Elektron emittiert wird, das wir mit β^+-Teilchen oder Positron bezeichnen. Diese Umwandlungsart tritt bei den künstlich radioaktiven Isotopen recht häufig auf. Das Umwandlungsschema sieht folgendermaßen aus:

$$^A_Z X \rightarrow \beta^+ + {}^A_{Z-1} Y. \qquad \text{(III)}$$

Die β^+-Teilchen zeigen eine Energieverteilung und eine Energie-Reichweite-Beziehung, die der der β-Teilchen sehr ähnlich ist. Allerdings tritt hier gegenüber den β^--Strahlern eine Besonderheit auf: Wenn die β^+-Teilchen sich in der Materie totgelaufen haben, bleiben sie nicht etwa als Positronen bestehen, sondern vereinigen sich mit einem negativen Elektron der Materie. Dieses System aus Elektron und Positron, dessen Masse insgesamt einer Energie von etwa 1 MeV entspricht, zerstrahlt,

wobei zwei γ-Quanten von je rund 0,5 MeV gebildet werden. Ein Positronenstrahler wird also immer in der Materie, die seine β^+-Teilchen abbremst, sekundäre γ-Strahlung erzeugen.

e) K-Elektroneneinfang.

Der Übergang vom Ausgangskern ${}^{A}_{Z}X$ zum Endkern ${}^{A}_{Z-1}Y$ ist keineswegs nur durch Positronenemission (Umwandlung III) möglich, er kann auch dadurch verursacht werden, daß der Ausgangskern ein Elektron aus seiner Elektronenhülle schluckt. Dieser Prozeß ist verständlich, da man weiß, daß sich das K-Elektron mit einer Wahrscheinlichkeit, die nicht gleich Null ist, ganz nahe am Kern oder sogar im Kern aufhalten kann. So kann der Kern das Elektron einfangen. Das Endatom hat als Folge davon ein Loch in seiner K-Schale. Es wird deshalb seine charakteristische Röntgenstrahlung emittieren, die unter Umständen das einzige Anzeichen dieser Umwandlung ist. Ein Beispiel für das Nebeneinander von Positronenemission und K-Elektroneneinfang ist das radioaktive Isotop ${}^{65}_{30}\mathrm{Zn}$. Es zerfällt in ${}^{65}_{29}\mathrm{Cu}$, wobei in 2% der Zerfälle Positronen emittiert werden, in 98% dagegen geht die Umwandlung durch K-Elektroneneinfang mit darauffolgender Röntgenstrahlemission vor sich.

f) γ-Strahlen.

Alle vier genannten Umwandlungstypen können von γ-Strahlen, die aus dem Kern stammen, begleitet sein. Sie entstehen immer dann, wenn der Folgekern nicht in seinem tiefsten Zustand, im sogenannten Grundzustand, sondern in einem angeregten Niveau zurückgelassen wird. Wir wollen uns dieses wieder in der Energieskala (Abb. 3) an einem geeigneten Zerfallsschema, nämlich ${}^{24}\mathrm{Na}$, klar machen. Die β^--Emission des ${}^{24}\mathrm{Na}$ erzeugt den ${}^{24}\mathrm{Mg}$-Kern in einem angeregten Zustand, der durch Aussendung von zwei aufeinanderfolgenden γ-Quanten in den Grundzustand übergeht. Die Lebensdauer dieser angeregten ${}^{24}\mathrm{Mg}$-Niveaus ist außerordentlich kurz; sie beträgt weniger als 10^{-12} sec, so daß unsere Meßgeräte die Emission des β-Teilchens und der zwei γ-Strahlen stets gleichzeitig anzeigen.

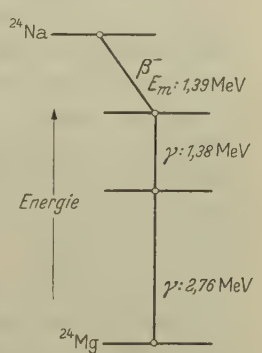


Abb. 3.
Zerfallsschema des ${}^{24}\mathrm{Na}$:
${}^{24}\mathrm{Na} \rightarrow \beta^- + {}^{24}\mathrm{Mg}$.

Die γ-Strahlen haben wie die α-Teilchen diskrete Energien, die genau den Energiedifferenzen zwischen Anfangs- und Endniveau entsprechen. Da ihre Absorption annähernd exponentiell erfolgt, haben sie keine definierte Reichweite. Man charakterisiert hier die Absorption wie bei den β-Teilchen durch

die Halbwertsdicke D, die wegen der schwachen Wechselwirkung der γ-Strahlen mit der Materie wesentlich größer ist als bei den β-Strahlen. Für γ-Quanten von 2 MeV Energie beträgt D in Al etwa 6 cm.

g) Konversionselektronen.

Nicht immer geht ein angeregtes Niveau, wie es in Abb. 3 eingezeichnet ist, in das tiefer liegende durch Emission eines γ-Quants über. Die Energieabgabe kann auch dadurch erfolgen, daß ein gerade am Kern befindliches Hüllenelektron die überschüssige Energie ΔE des Kerns übernimmt. Das Elektron verläßt dann das Atom mit dieser Energie ΔE abzüglich der Bindungsenergie des Elektrons an das Atom. Solche Elektronen nennt man Konversionselektronen; sie haben im Gegensatz zu den im Kern entstehenden β-Teilchen eine einheitliche Energie, so daß sie von diesen unterscheidbar sind. Dieser Prozeß der Konversion muß natürlich auch von der charakteristischen Röntgenstrahlung des betreffenden Atoms begleitet sein, da das in der Hülle entstandene Elektronenloch wieder durch ein Elektron der weiter außen liegenden Elektronenschalen aufgefüllt wird.

Die Wahrscheinlichkeit dafür, daß statt des γ-Quants ein Konversionselektron erscheint, nimmt im allgemeinen mit kleiner werdender γ-Strahlenenergie und höherer Ordnungszahl des Kernes zu. Bei ^{60}Co und ^{24}Na, die nur γ-Quanten mit Energien größer als 1 MeV aussenden, tritt in weniger als 1% der Zerfälle ein Konversionselektron auf. Dagegen spielen sie z. B. bei dem Zerfall des ^{153}Gd eine erhebliche Rolle.

$$^{153}_{64}\mathrm{Gd} \xrightarrow[263\,d]{K\text{-}Elektroneneinfang} {}^{153}_{63}\mathrm{Eu} + 0{,}102\ \mathrm{MeV}.$$

Bei dieser Umwandlung wird nur selten ein γ-Strahl emittiert, statt dessen erscheint praktisch bei jedem Zerfall ein Konversionselektron. Wie man aus dem Beispiel sieht, wird man gut daran tun, sich zu vergewissern, daß die Konversionswahrscheinlichkeit des γ-Quantes ausreichend klein ist, falls Untersuchungen mit γ-Strahlen wegen ihrer großen Durchdringungsfähigkeit geplant sind. Dies gilt besonders bei γ-Energien unter 300 keV.

4. Die wichtigsten Einheiten der Radioaktivität.

Wir sahen, daß die radioaktiven Atome beim Zerfall verschiedene Strahlungsarten aussenden, die sich physikalisch relativ leicht nachweisen lassen. Es ist deshalb naheliegend, daß man als Maß für eine radioaktive Substanzmenge ihre Aktivität auswählt, also die Zahl der Zerfälle, die in der Substanz in 1 sec stattfinden. Die allgemein übliche Einheit ist das Curie, das nach neuesten Vorschlägen nicht wie früher durch die Strahlung von 1 g Radium definiert ist, sondern durch die Substanzmenge, die pro Sekunde $3{,}7 \cdot 10^{10}$ Zerfallsakte liefert.

Entsprechend der Gleichung (1) und (3) ist bei einer bestimmten Aktivität die Zahl der radioaktiven Atome proportional zur Halbwertszeit T. Wir wollen ein Beispiel anführen:

1 Curie ^{32}P (T = 14,1 d) hat die Masse von etwa 0,0036 μg,
1 Curie ^{14}C (T = 5589 a) hat die Masse von etwa 200 μg.

Für die biologische Wirkung von radioaktiven Substanzen kommt es nicht auf die Zahl der Zerfälle an, sondern im wesentlichen auf die Zahl der Ionen, die im Gewebe durch die emittierte Strahlung entsteht. Man wird hier also eine neue Einheit wählen müssen. Man definiert deshalb als Maß für den biologischen Effekt der von der radioaktiven Substanz ausgehenden γ-Strahlung die Bestrahlungsdosis von 1 Röntgen (r). Darunter versteht man eine solche γ-Strahlung, die in 1 cm^3 Normalluft $2{,}083 \cdot 10^9$ Ionenpaare erzeugt. Das Röntgen sagt also über die Beschaffenheit der Strahlung selbst nichts aus, weder über die Zahl der γ-Quanten noch über deren Energie. Da das Röntgen auf 1 cm^3 Luft bezogen wird, spricht man neuerdings häufig nicht von der Bestrahlungsdosis, sondern von der spezifischen Bestrahlungsdosis, und wir wollen uns diesem neuen Sprachgebrauch anschließen.

Die Einwirkung der in Abs. 3 aufgezählten Strahlenarten können in Lebewesen recht beträchtliche biologische Schädigungen hervorrufen. Man hat deshalb an Hand von großem Erfahrungsmaterial zum Schutz für den mit radioaktivem Material umgehenden Menschen eine „Toleranzdosis pro Woche" von 0,3 r/w, in freier Luft gemessen, angesetzt. Solcher spezifischen Bestrahlungsdosisleistung soll der Mensch fortwährend ausgesetzt sein können, ohne daß Strahlenschädigungen zu erwarten sind. Selbstverständlich ist diese Zahlenangabe kein fester, unumstößlicher Wert, da er allein auf Grund von Erfahrungen festgelegt worden ist.

5. Ansprechwahrscheinlichkeit von verschiedenen radioaktiven Isotopen im Flüssigkeitszählrohr und Fensterzählrohr.

Für den Nachweis der beim Zerfall der radioaktiven Isotope ausgesandten Strahlungsarten wollen wir allein auf zwei Ausführungen des Geiger-Müller-Zählrohres näher eingehen: das Flüssigkeitszählrohr (Abb. 4) und das Fensterzählrohr, das mit dem Kasten K und dem Präparatständer PS in Abb. 5 eingezeichnet ist.

Für Messungen im Flüssigkeitszählrohr verwendet man die radioaktive Substanz als wäßrige Lösung, die stets in gleichem Volumen in das Zählrohr eingefüllt werden muß. Dagegen werden beim Fensterzählrohr die zu untersuchenden radioaktiven Substanzen in fester Form gemessen. Hierbei wollen wir zunächst nur so geringe Mengen benutzen, daß keine Absorption der Strahlung im Präparat stattfindet.

Wir haben in Tab. 2 die Wahrscheinlichkeit eingetragen, mit der die verschiedenen radioaktiven Isotope in unseren beiden speziellen Anordnungen gezählt werden. Wir nennen sie die Ansprechwahrscheinlichkeit A, die also definiert ist durch die Gleichung:

$$A = \frac{\text{Zahl der vom Zählrohr gezählten Impulse}}{\text{Zahl der im Präparat zerfallende Atome}} .$$

Die in Tab. 2 eingetragenen Werte gelten zwar nur für die von uns verwendeten Zählrohre und Anordnungen, sind aber typisch für alle ähnlichen Zählrohre und Anordnungen. Die Tab. 2 enthält gleichzeitig die von den einzelnen radioaktiven Isotopen ausgesandten Strahlungen mit deren prozentualen Anteilen am Zerfall.

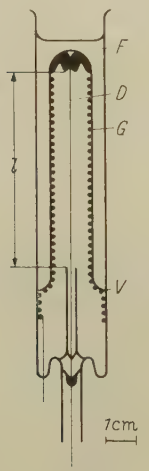


Abb. 4.

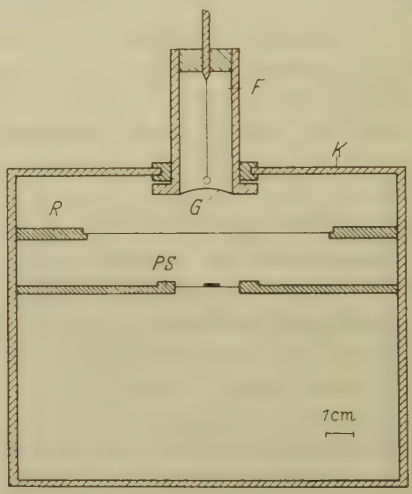


Abb. 5.

Abb. 4. Das von uns verwandte Flüssigkeitszählrohr EMI 3021. *D* Zähldraht, *G* Zählrohrwand mit Graphitbelag, *F* radioaktive Flüssigkeitsmenge, *V* Verschmelzung von äußerem und innerem Glaszylinder, *l* Länge des empfindlichen Zählrohrvolumens.

Abb. 5. Die von uns verwandte Zählrohranordnung mit Fensterzählrohr. *F* Fensterzählrohr mit Glimmerfolie *G* (1,5 mg/cm²), *PS* Präparatständer, *R* Ring für Absorberfolien, *K* Aluminiumkasten.

Aus dem Vergleich der Werte sieht man, daß im Flüssigkeitszählrohr die reinen β-Strahler eine um so kleinere Ansprechwahrscheinlichkeit haben, je kleiner deren Maximalenergie ist. So wird z. B. beim ^{60}Co die β-Strahlung praktisch überhaupt nicht mehr gezählt. Der angegebene Wert von 0,59% wird vielmehr von den zwei energiereichen γ-Strahlen, die pro Zerfall emittiert werden, verursacht. Das heißt aber, daß die Ansprechwahrscheinlichkeit auch für energiereiche γ-Quanten im Vergleich zu den energiereichen β-Strahlen sehr klein ist. Das ist durch die schon früher erwähnte geringe Wechselwirkung der γ-Strahlen mit der Materie verständlich. Das Geiger-Müller-Zählrohr zählt also nur einen kleinen Prozentsatz aller auf die Wandung auffallenden γ-Quanten, der von der

Energie und dem Wandmaterial abhängt und der größenordnungsmäßig 1 % beträgt. Im Gegensatz dazu wird jeder β-Strahl, der in das Zählrohr eindringt, vom Zählrohr registriert. Jedoch erleiden diese gegenüber den γ-Strahlen eine beträchtliche Absorption in der Zählrohrwand und werden, falls ihre Maximalenergie kleiner als 0,4 MeV ist, praktisch nicht mehr durch die Wand hindurchgelassen. Deshalb können energiearme β-Strahler wie S^{35} im Flüssigkeitszählrohr überhaupt nicht ausgemessen werden. In diesen Fällen ist das Fensterzählrohr noch gut brauchbar, da das Fenster ausreichend dünn gemacht werden kann, so daß die β-Strahlen noch in das Zählrohr eindringen können.

Tabelle 2. *Zerfallsdaten verschiedener radioaktiver Isotope und ihre Ansprechwahrscheinlichkeit für Flüssigkeitszählrohr und Fensterzählrohr.*

Isotop	Halbwertszeit	Art des Zerfalls	Maximal-Energie des β-Spektrums in MeV	γ-Strahlung		Ansprechwahrscheinlichkeit A	
				γ-Energie in MeV	Wahrscheinlichkeit je Zerfallsakt	Flüssigkeitszählrohr EMI 3021	Zählrohranordnung n. Abb. 5
$^{24}_{11}Na$	15,04 h	100% β^-	1,39	2,75	100%	7,8%	
				1,38	100%		
$^{32}_{15}P$	14,07 d	100% β^-	1,689		keine	10,1%	3,6%
$^{35}_{16}S$	88 d	100% β^-	0,167		keine	—	0,3%
$^{42}_{19}K$	12,44 h	100% β^-					
		84%	3,84	1,51	16%	17,84%	4,1%
		16%	1,92				
$^{60}_{27}Co$	5,26 a	100% β^-	0,318	1,33	100%	0,59%	1,7%
$^{69}_{30}Zn^*$				1,17	100%		
	13,8 h	I. Ü.		0,439	100%		
$^{69}Zn^*$	→ 69Zn (im radioaktiven Gleichgewicht)					2,61%	3,2%
^{69}Zn	57 min	100% β^-	0,86		keine		
$^{86}_{37}Rb$	19,5 d	100% β^-					
		80%	1,8	1,076	20%	7,9%	3%
		20%	0,724				
90Sr	19,9 a	100% β^-	0,53		keine		
^{90}Sr	→ 90Y (im radioaktiven Gleichgewicht)					13,8%	6,8%
$^{90}_{39}Y$	2,54 d	100% β^-	2,18		keine		
$^{131}_{53}J$	8,02 d	100% β^-		0,720	4%		
		86%	0,606	0,637	10%		
		14%	0,306	0,363	79%	0,77%	
				0,282	7%		
				0,080	17%		
$^{198}_{79}Au$	2,69 d	100% β^-	0,975	0,411	100%	2,8%	3,6%
$^{204}_{81}Tl$	3,5 a	100% β^-	0,783		keine	1,46%	
$^{210}_{83}Bi$	5,0 d	100% β^-	1,17		keine	2,8%	
^{210}Bi	→ 210Po					(β-Strahl. werden nicht mitgezählt)	
^{210}Po	138,3 d	100% β	β-Energie 5,30		einige		

Im allgemeinen sind die Ansprechwahrscheinlichkeiten für das Fensterzählrohr kleiner als für das Flüssigkeitszählrohr. Sie betragen in unserer Anordnung bei β-Strahlen mit nicht zu kleiner Maximalenergie etwa 3,5%. Beim Sr^{90} ist der Wert doppelt so groß, da Sr^{90} mit seinem radioaktiven Folgeprodukt Y^{90} im radioaktiven Gleichgewicht steht. Wir haben nun allein die zerfallenden Sr^{90}-Atome, nicht aber auch die zerfallenden Y^{90}-Atome berücksichtigt. Die Ansprechwahrscheinlichkeit für S^{35} ist besonders klein, da die β-Strahlung sehr energiearm ist und sowohl von der Luftschicht zwischen Präparat und Zählrohr als auch von dem Fenster des Zählrohres schon erheblich absorbiert wird. Falls eine größere Ansprechwahrscheinlichkeit wünschenswert ist, müßte die Fensterdicke herabgesetzt und die Kammer K (Abb. 5) evakuiert werden.

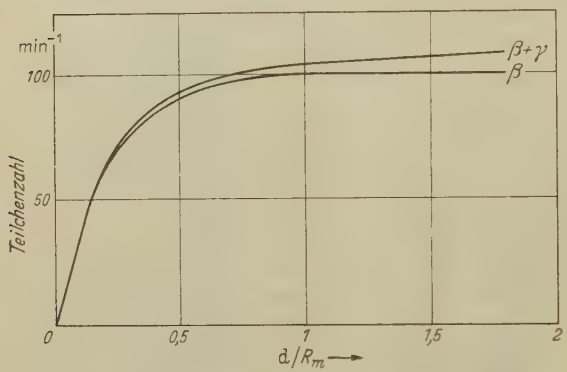


Abb. 6. Die Teilchenzahl in Abhängigkeit von dem Verhältnis der Präparatdicke d zur Maximalreichweite R_m der β-Strahlen (schematisch). Für Schichten $d/R_m > 1$ wurde die Teilchenzahl, die die β-Strahlung verursacht, gleich 100/min gesetzt. a) reiner β-Strahler, b) β-Strahler mit γ-Emission.

Nicht immer wird es beim Fensterzählrohr günstig sein, mit dünnen Präparatschichten zu arbeiten. Bei dicken muß jedoch immer beachtet werden, daß die Strahlung eine recht erhebliche Absorption im Präparat erleiden kann. Als Beispiel dafür ist in Abb. 6 schematisch sowohl für einen reinen β-Strahler als auch für einen β-Strahler, der gleichzeitig γ-Quanten emittiert, die gezählte Teilchenzahl in Abhängigkeit von der Schichtdicke eingetragen. Dabei ist die maximale Teilchenzahl, die durch die β-Strahlung allein entsteht, gleich 100/min gesetzt worden, und die Schichtdicke wurde in Bruchteilen der Maximalreichweite R_m der β-Strahlen aufgetragen. Bei reinen β-Strahlern wird man, falls dicke Schichten verwendet werden sollen, immer solche auswählen, deren Dicke groß gegen die Maximalreichweite der β-Strahlen ist. Man arbeitet dann im Bereich der Sättigung, die β-Strahlen kommen also nur noch aus der obersten Schicht heraus. Die verschiedenen Aktivitäten pro Gramm Substanz eines bestimmten Isotops können dann ohne weiteres miteinander verglichen werden, wenn nur die chemische Zusammensetzung nicht allzu verschieden ist. Bei der zusätzlichen Emission von γ-Strahlen ist es insofern komplizierter, als diese wegen ihrer großen Durchdringungsfähigkeit auch aus tieferen Schichten herauskommen und einen Beitrag zu der gemessenen Teilchenzahl liefern. Hier wird man die Meßergebnisse

immer an Hand einer für jedes Isotop einzeln auszumessenden Kurve, die der in Abb. 6 ähnlich ist, auf eine bestimmte Schichtdicke umrechnen müssen.

Wir haben gesehen, daß die γ-Strahlen vom GEIGER-MÜLLER-Zählrohr mit kleiner Wahrscheinlichkeit angezeigt werden. Das ist besonders ungünstig, wenn die γ-Strahlen zur Messung herangezogen werden müssen wie etwa bei Körpern mit großen Abmessungen, in denen nur wenig radioaktive Substanz eingebaut ist. Hier kommen nur die γ-Strahlen noch aus der Tiefe heraus, die β-Strahlen stammen aus der obersten Schicht nahe der Oberfläche. In einem solchen Fall wäre es wünschenswert, ein Nachweisgerät zur Verfügung zu haben, das γ-Quanten mit großer Ansprechwahrscheinlichkeit registriert. Solche Geräte sind neuerdings entwickelt worden. Sie bestehen aus einem Szintillationskristall, der einen Lichtblitz aussendet, wenn er ein γ-Quant absorbiert. Die Lichtblitze beobachtet und zählt man nun nicht mit dem Auge, sondern registriert sie mit einem Elektronenvervielfacher. Dieser wandelt den Lichtblitz in einen Spannungsimpuls um, der einem Verstärker zugeführt und von einem Zählgerät erfaßt wird. Verwendet man als Szintillationskristall z. B. NaJ, der mit Tl aktiviert ist, und wählt die Abmessung des Kristalls hinreichend groß, damit auch wirklich eine ausreichende Absorption der γ-Strahlen im Kristall stattfindet, so kann man durchaus 50% der auf den Kristall auftreffenden γ-Strahlen zählen. Das ist ein großer Vorteil dieser Szintillationskristalle, und sie haben deshalb für die Zählung von γ-Quanten neben den normalen GEIGER-MÜLLER-Zählrohren eine große Bedeutung gewonnen.

6. Schutzmaßnahmen.

Ehe die Arbeiten mit radioaktiven Substanzen begonnen werden können, müssen ausreichende Schutzmaßnahmen getroffen worden sein. Es muß also feststehen, daß alle mit den radioaktiven Substanzen umgehenden Personen höchstens der Toleranzdosis ausgesetzt sind, die, wie schon gesagt wurde, je Woche 0,3 r beträgt. Für die Extremitäten wurde der Wert von 1,5 r/w festgesetzt.

a) Offene Präparate.

Besondere Gefahren bergen die „offenen" Präparate in sich; darunter versteht man solche, die nicht ständig von einer allseitig dichten, inaktiven Hülle umgeben sind. Bei ihnen kann ein Teil der Radioaktivität abbröckeln, abspritzen, abstauben oder gar als Gas entweichen. Damit sind Verseuchungen an Arbeitskleidern und Arbeitsgegenständen möglich, so daß die radioaktive Substanz z. B. leicht über die Hände in den menschlichen Körper gelangen kann. Wird sie dort eingebaut, so beginnt entsprechend ihrer Halbwertszeit eine fortgesetzte Bestrahlung, die unter Umständen großen Schaden anrichtet. Auf Grund von Erfahrungen über

den Einbau einzelner Elemente im menschlichen Körper hat man bisher für einige wenige radioaktive Isotope maximale Aktivitäten angeben können, die sich im menschlichen Körper befinden dürfen, ohne daß Strahlenschädigungen zu erwarten sind. Diese Zahlen sind in der Tab. 3 zusammengetragen. Man sieht, daß die im menschlichen Körper erlaubten Aktivitäten außerordentlich klein sind, so daß man wirklich alles tun muß, um eine Verseuchung vollkommen auszuschalten. Das erreicht man am besten, wenn alle Arbeiten mit radioaktiven Isotopen in einem dafür vorgesehenen Raum vorgenommen werden, aus dem keine Gegenstände in andere Arbeitsräume gelangen dürfen. Die Arbeiten selbst führt man soweit als irgend möglich in einem abgeschlossenen Glaskasten aus, in den man nur mit Gummihandschuhen, die an der Frontplatte des Glaskastens befestigt sind, hineingreift.

Tabelle 3. *Die maximal erlaubte Aktivität verschiedener radioaktiver Isotope, die im Körper ständig eingebaut sein dürfen, ohne daß Schädigungen zu erwarten sind.*

Isotop	Na^{24}	P^{32}	Co^{60}	$Sr^{90}(+Y^{90})$	J^{131}	Ra^{226}
Max. Aktivität in μC	15	10	1	2	0,3	0,1

Nach jedem Arbeitstag, an dem mit offenen Präparaten gearbeitet wurde, sind die mit dem Präparat umgehende Person und der gesamte Arbeitsraum mit einem Nachweisgerät gründlich auf Verseuchungen hin zu untersuchen. Selbstverständlich muß das Nachweisgerät für das entsprechende Isotop geeignet sein. Man darf also für S^{35} nicht etwa ein gewöhnliches Glaszählrohr verwenden, das für S^{35} unempfindlich ist, sondern z. B. ein Fensterzählrohr mit ausreichend dünnem Fenster, dessen Flächendichte nicht größer als etwa 2—3 mg/cm^2 sein sollte. Jeder verseuchte Gegenstand ist radikal zu entfernen. Deshalb überzieht man soweit als möglich alle Gegenstände mit einem billigen wasserundurchlässigen Überzug, der ohne besondere Kosten entfernt werden kann. Radioaktive Abfälle sollten, falls es sich um langlebige Substanzen handelt, in einen wasserundurchlässigen Behälter getan werden, der stets mit einem Deckel verschlossen und von Unkundigen nicht erreichbar sein sollte. Kurzlebige Substanzen bis zu etwa einem Millicurie können ohne weiteres bei laufender Wasserspülung dem Kanalsystem zugeführt werden.

b) Geschlossene Präparate.

Soweit es sich um reine β-Strahler handelt, ist der Umgang relativ einfach, da diese β-Strahlen wegen ihrer starken Absorbierbarkeit schon zum größten Teil in der Kleidung und in den Gummihandschuhen stecken bleiben. γ-strahlende Präparate dagegen, auch wenn sie abgeschlossen sind, können wegen des großen Durchdringungsvermögens der Strahlung starke Schädigungen verursachen. Hier wird man, ehe mit der

Substanz gearbeitet wird, unbedingt feststellen müssen, ob die Toleranzdosis für die Mitarbeiter beim Umgang mit der Substanz nicht überschritten wird. Als erstes Hilfsmittel hierfür sei die Tab. 4 angeführt, in der für verschiedene radioaktive Isotope, deren Aktivität 100 mC beträgt, die spezifische Dosis in mr angegeben ist, wenn der Abstand 1 m und die Bestrahlungsdauer 1 Std betragen. Wie man sieht, erhält man

Tabelle 4. *Spezifische Bestrahlungsdosen verschiedener radioaktiver Substanzen mit 100 mC Aktivität, die in einem Abstand von 1 m innerhalb 1 Std geliefert werden.*

Isotop	$^{11}_{24}Na$	$^{42}_{19}K$	$^{59}_{26}Fe$	$^{60}_{27}Co$	$^{131}_{53}J$	$^{198}_{79}Au$	$^{226}_{88}Ra$
$\frac{mr \cdot m^2}{100\ mC \cdot h}$	196	13	67	135	25	23	84

beim ^{24}Na schon unter diesen Bedingungen innerhalb 1 Std mehr als die halbe zulässige Wochendosis. Man muß also unbedingt darauf achten, die spezifische Bestrahlungsdosis herabzusetzen. Das einfachste und beste Mittel hierfür ist die Vergrößerung des Abstandes, da die Intensität quadratisch mit der Entfernung abnimmt. Wenn also der Abstand auf 2 m erhöht wird, so sinkt die spezifische Bestrahlungsdosis auf $^1/_4$ des ursprünglichen Wertes ab. Meist ist aber beim Arbeiten mit radioaktiven Substanzen ein Abstand von weniger als 1 m unvermeidlich. Selbst eine Verkürzung der Arbeitszeit wird oft nicht die genügende Herabsetzung der Bestrahlungsdosis sichern. Man muß deshalb zwischen Präparat und arbeitende Person Materialien bringen, die die γ-Strahlen in starkem Maße absorbieren. Sehr geeignet hierfür ist Blei. In der Tab. 5 sind für

Tabelle 5. *Dicken der Bleiabschirmungen, die bei verschiedenen radioaktiven Substanzen mit 200 mC Aktivität (Abstand 50 cm, Bestrahlungszeit 8 Std) die spezifischen täglichen Bestrahlungsdosen auf 0,05 mr/Tag herabsetzen.*

Isotop	Na^{24}	K^{42}	Fe^{59}	Co^{60}	J^{131}	Au^{198}	Ra^{226}
H.W.Z. T	15,04 h	12,44 h	46 d	5,26 a	8,0 d	2,69 d	1590 a
Pb-Dicke in cm .	11,6	3,4	7,54	8,5	4,1	2,1	9,4

einige radioaktive Substanzen, deren Aktivität 200 mC beträgt, die Bleidicken eingetragen, die bei einer Arbeitszeit von 8 Std und einem Abstand von 50 cm die spezifische Bestrahlungsdosis auf 0,05 r/Tag herabdrücken. Diese Bleidicken sind berechnet und lassen sich für alle radioaktiven Isotopen angeben, deren Zerfallsschemata genau bekannt sind. Dementsprechend wird man also die Dicke der Bleiabschirmung eines Arbeitstisches und auch des Aufbewahrungsraumes für die radioaktiven Substanzen wählen. Darüber hinaus aber sollte die mit den Präparaten arbeitende Person ständig einen kleinen Dosismesser bei sich tragen, an dem nach Beendigung des Arbeitsganges die gesamte spezifische Dosis abgelesen werden kann. Es empfiehlt sich, hierüber ein Kontrollbuch

anzulegen, so daß ständig auch über längere Zeiten die verabfolgte Dosis kontrolliert werden kann. Erst dann läßt sich wirklich entscheiden, ob die getroffenen Schutzmaßnahmen ausreichend sind.

Statt des kleinen Dosismessers kann man auch einen Dosisleistungsmesser verwenden, mit dem die Verteilung der Bestrahlungsdosis im Arbeitsraum in relativ kurzer Zeit ausgemessen werden kann. Diese Meßergebnisse sollten im Kontrollbuch verzeichnet werden, wenn die oben angegebene Gesamtdosis nicht bekannt ist. Bei allen Dosismessern, die in Benutzung sind, muß sicher sein, daß sie für die Energie der γ-Strahlen, die das verwendete Isotop aussendet, geeicht sind. Andernfalls ist die Eichung selbst vorzunehmen. Dies ist mit Hilfe der Tab. 4 relativ einfach.

Zum Schluß sei darauf hingewiesen, daß die größte Gefahr im Umgang mit radioaktiven Substanzen in der schlechten Nachweisbarkeit von schon beträchtlichen Strahlenschäden im menschlichen Körper liegt. Man kennt einige Beispiele, in denen Strahlenschäden, die zum Tode führten, kurze Zeit vor dem Tode klinisch nicht nachgewiesen werden konnten. Aus diesem Grunde liegt der einzige zuverlässige Strahlenschutz in einer genauen Kontrolle über die radioaktiven Verseuchungen und über die erhaltenen spezifischen Bestrahlungsdosen mit Meßgeräten, deren einwandfreies Arbeiten stets überprüft werden muß. Erst wenn alle diese Schutzmaßnahmen getroffen wurden, ist die wichtigste Voraussetzung für das Arbeiten mit radioaktiven Isotopen gegeben.

Zusammenfassung.

Neben den verschiedenen Zerfallsarten, die bei der Radioaktivität beobachtet werden, sind die Eigenschaften der freiwerdenden Strahlungen näher beschrieben. Als Nachweisgerät für die radioaktiven Atome werden zwei Formen des Geiger-Müller-Zählrohres angegeben: das Flüssigkeitszählrohr und das Fensterzählrohr. Die Vorteile der Szintillationszähler für die γ-Strahlmessung sind kurz erwähnt. Zum Schluß werden als Grundlage für die Schutzmaßnahmen gegen Strahlenschädigungen einige Tabellen angegeben.

K. Bucher (Basel): Die Bedeutung der Radioisotopen für die pharmakologische Forschung.

Mit 2 Textabbildungen.

Die Pharmakologie hat durch die Heranziehung von Isotopen bereits in vielen und verschiedenen Problemstellungen eine Förderung erfahren. Der Beispiele, die das belegen könnten, gibt es viele. Ich möchte mich bei der Auswahl derselben vor allem an solche halten, welche grundsätzliche Fragestellungen der allgemeinen Pharmakologie tangieren sowie gleichzeitig die Vielfalt der Verwendungsmöglichkeit der Isotopen illustrieren. Zur besseren Übersichtlichkeit möchte ich sie gruppieren, je

nachdem sie gewisse Probleme a) der *Resorption*, b) des *Transportes* im *Gefäßsystem*, c) *der Deposition in den Geweben*, d) der *Elimination* oder schließlich e) des *Wirkungsmechanismus*, der Pharmakodynamie im engeren Sinne, betreffen.

Im ersten Abschnitt über „*Resorption*" möchte ich zwei Fragestellungen nennen, für welche die Vorteile der Verwendung von radioaktiven Isotopen besonders leicht einzusehen sind.

Die erste betrifft die Frage der Resorptionsgeschwindigkeit eines Pharmakons aus einem circumscripten Depot. Wenn man ein radioaktiv markiertes Pharmakon subcutan injiziert, so kann man anschließend durch bloßes Auflegen eines geeigneten Geiger-Zählrohres in einfacher Weise bestimmen, in welcher Zeit es aus dem betreffenden und eventuell dem unmittelbar umliegenden Bezirk verschwindet. Ist die Strahlung nicht durchschlagskräftig genug, so ist allenfalls der in Frage stehende Bezirk zu excidieren und zu veraschen. Auch in diesem letzteren Fall bleibt das Vorgehen immer noch einfacher, als wenn man die restierende, noch nicht resorbierte Substanz mit chemischen Methoden nachweisen müßte, was übrigens in manchen Fällen gar nicht möglich sein würde. Das Verfahren eignet sich besonders zu Serienuntersuchungen mit Resorptionsverzögerern.

Wir haben mit diesem Verfahren vor Jahren einmal untersucht*, inwiefern die Reizwirkung, welche gewisse Pharmaka bei subcutaner Verabreichung hervorrufen, die Resorptionsbedingungen für gleichzeitig mitinjizierte Stoffe verändert. Als Reizbildner benützten wir k-Strophanthin und Salvarsan und als Versuchstiere Ratten. Jedes Tier erhielt an einer von drei in der Medianlinie gelegenen, gut vergleichbaren Stellen der Bauchhaut eine subcutane Injektion von $^1/_{20}$ ml Ringer-Lösung, die radioaktives Na-phosphat enthielt. Na-phosphat war der Stoff, dessen Resorption wir verfolgen wollten. Im übrigen war dem Injektionsgut noch k-Strophanthin zugesetzt (zu 1 und 2 Promille), oder Salvarsan (zu 2 und 10%), oder aber — zur Leerkontrolle — nichts weiteres. 5 oder 15 min nach der Injektion wurden die Tiere getötet, die ganze Bauchwand (also Haut und Muskulatur) wurde in einem bestimmten Umkreis um die Injektionsstelle entnommen, verascht und auf Radioaktivität untersucht. Das wichtigste und prinzipielle Ergebnis dieser Experimente bestand darin, daß eine bei grober äußerlicher Betrachtung gleiche Reaktion, die wir als lokale Reizwirkung bezeichnen, im einzelnen doch nicht so ganz gleich sein dürfte je nach dem Stoff, durch welchen sie hervorgerufen ist. Durch die Strophanthinreaktion nämlich wurde die Resorption des Na-phosphates deutlich verlangsamt, durch die Salvarsanreaktion hingegen ebenso deutlich beschleunigt.

Ein weiteres Resorptionsproblem, das durch Heranziehung von radioaktiven Isotopen stark gefördert werden kann, ist die Frage nach dem Resorptions*weg*, den ein appliziertes Pharmakon nimmt. Von verschiedener Seite wurde je und je die Auffassung vertreten, die rectale Applikation eines Pharmakons könnte gegenüber der peroralen unter anderem den Vorteil haben, daß ein Teil des Pharmakons unter primärer

* Unveröffentlicht.

Umgehung der Leber aufgenommen werden könnte. Das müßte vor allem für die Stoffe von Vorteil sein, welche schon durch eine einzige Leberpassage in hohem Maße unwirksam gemacht werden. Theoretisch war dieser Aufnahmeweg schon immer umstritten. Den Anatomen war schon lange bekannt, daß die venösen Plexus des Rectums sowohl nach der Porta als auch direkt nach der Cava Abflußmöglichkeiten besitzen. Welchen Weg die resorbierten Stoffe dann aber tatsächlich nehmen, hängt weitgehend von den lokalen hämodynamischen Verhältnissen ab, also von einer funktionellen Situation. Wir haben diese Frage deshalb seinerzeit an Ratten experimentell bearbeitet[1]. Die Tiere wurden getötet und sofort anschließend von der Aorta aus künstlich durchströmt. Die Vena portae wurde unmittelbar vor ihrem Eintritt in die Leber unterbunden und peripher durchtrennt; das ausfließende Portalblut wurde gesammelt. Andererseits wurde der rechte Vorhof weit eröffnet. Das ausfließende Blut wurde ebenfalls gesammelt. Es repräsentierte das gesamte Körpervenenblut mit Ausnahme des Portalblutes. Dann wurde den Tieren ein Suppositorium verabreicht, das einen leicht resorbierbaren, radioaktiv markierten Stoff enthielt ($Na_2H^{32}PO_4$). Durch kontinuierliche Messung der einerseits aus dem rechten Herzen und andererseits aus der Vena portae ausfließenden Radioaktivität konnte leicht festgestellt werden, wieviel von dem aus dem Suppositorium resorbierten Pharmakon unter primärer Umgehung der Leber, d. h. direkt über die Cava aufgenommen worden war. Wenn das Suppositorium nur das unterste Sechstel des Rectums ausgefüllt hatte, wurden etwa 75% extraportal aufgenommen; war es mit den unteren zwei Dritteln der Rectalschleimhaut in Kontakt gewesen, waren es immerhin noch rund 50%.

Die Frage des *Transportes* eines bereits resorbierten Stoffes im Gefäßsystem, der Transport vom Resorptionsort zu den verschiedenen Organen, kann den Pharmakologen in mancherlei Hinsicht interessieren. Angenommen man wollte in Versuchen am Menschen die Latenzzeit einer Wirkung im engeren Sinne kennen, d. h. die Zeit, die vergeht von dem Moment, da ein Stoff in wirksamer Konzentration am Erfolgsorgan tatsächlich sich befindet, bis zu dem Moment, da die Wirkung manifest wird. Wenn man beispielsweise Calcium intravenös spritzt und untersucht, nach welcher Zeit der Patient auf der Zunge das typische Brennen empfindet, so müßte man von dieser Zeit die eigentliche Transportzeit abziehen können, wenn man etwas über die Latenzzeit im engeren Sinne erfahren wollte. Bei Verwendung eines mit radioaktivem Calcium (beispielsweise mit ^{49}Ca) markierten Präparates dürfte das Problem ohne weiteres lösbar sein. Man brauchte nur einen Geiger-Zähler auf die Zunge zu setzen, das markierte Calcium rasch zu injizieren und den Zeitpunkt der maximalen Strahlungsintensität mit dem der stärksten Geschmacksempfindung in Beziehung zu bringen.

Ein anderes, den Pharmakologen interessierendes Transportproblem ist die Frage nach dem Transport*weg*, den eine bereits in die Blutbahn aufgenommene Substanz innerhalb des Gefäßsystems nimmt. Man weiß heute, daß das Herz bei weitem kein so vollkommener „Blutmischer" ist, wie ehedem stillschweigend angenommen wurde. Auch diese Erkenntnis wurde erst durch die Radioisotopen ermöglicht. Wir haben seinerzeit radioaktive Mikroemboli in verschiedene Körpervenen injiziert und gefunden, daß diese nicht etwa diffus[3, 4] über die ganze Lunge verteilt werden, sondern daß sie eine verschiedene Lungenlokalisation zeigen je nach der Körpervene, in welche sie injiziert wurden. Damit ist bewiesen, daß das aus der Körperperipherie ins rechte Herz gelangende Venenblut daselbst keineswegs vollständig durchgemischt wird, sondern daß es auch durch das Herz hindurch und bis in die Peripherie der Lungen in mehr oder weniger getrennten Strömen fließt. Es müßte also eigentlich möglich sein, durch geschickte Auswahl der Körpervenen, in welche man einen Stoff injiziert, diesen in bestimmte Gebiete der Lunge zu zielen. Versuche dieser Art sind zur Zeit am Menschen im Gang.

Bei den radioaktiven Mikroemboli, die in den eben erwähnten Versuchen Verwendung fanden, handelt es sich um künstlich hergestellte, wasserunlösliche, radioaktive Kügelchen von 27 Mikren Durchmesser und dem spezifischen Gewicht des Blutplasmas[7]. Diese Kügelchen können in der Pharmakologie vielseitige Verwendung finden.

So hat z. B. Mumenthaler[10] mit einer ähnlichen Versuchsanordnung, wie früher von uns beschrieben[3, 4], am Kaninchen zeigen können, daß auch das intestinale Venenblut in der V. portae mehr oder weniger getrennten Bahnen folgt, was dann im weiteren dazu führt, daß es je nach seiner Provenienz in verschiedene Lebergebiete einströmt. So gelangt z. B. das aus dem Sigma kommende Blut vor allem in den äußersten rechten und dann auch in den äußersten linken Leberlappen; die beiden Mittellappen erhalten dagegen sehr viel weniger.

Eine weitere Fragestellung, die wir mit Schär[5, 11] mit solchen Korpuskeln bearbeitet haben, lautete: In welchem Grade ist eine Vorschädigung des Herzens, wie man sie durch multiple, diffuse Mikro-Embolisierung des Coronargefäßgebietes erhalten kann, auf das Entstehen der Rhythmusstörungen von Einfluß, die durch Adrenalin hervorgerufen werden? Wir haben an narkotisierten Kaninchen bei geschlossenem Thorax von der Carotis aus einen Katheter bis an die Abgangsstelle der rechten oder linken Kranzarterie vorgeschoben und durch diesen eine bestimmte Menge radioaktiver Kügelchen injiziert. Die Radioaktivität erlaubte, die Lokalisation der Emboli leicht festzustellen. Unmittelbar nach der Eingabe der Kügelchen erhielten die Tiere eine intravenöse Dauerinfusion von Adrenalin. Der Blutdruck und das EKG wurden fortlaufend registriert. Das wichtigste Ergebnis bestand in der Feststellung, daß Adrenalin vor allem dann Rhythmusstörungen hervorrief, wenn eine Herzhälfte wesentlich stärker embolisiert war als die andere. Es konnte sich — was vielleicht zu erwarten war — um die rechte handeln; es kann aber geradesogut auch die linke sein. Herzen, deren rechte und linke Hälften etwa gleichmäßig embolisiert waren, neigten sehr viel weniger zu Rhythmusstörungen.

Im weiteren haben sich uns diese radioaktiven Mikroemboli als sehr geeignet erwiesen für pharmakologische Untersuchungen an arterio-venösen Anastomosen in vivo. Wenn in einem Organ arterio-venöse Anastomosen mit einer lichten Weite

von über 27 Mikren vorhanden sind, so müssen bei Injektion in die Arterie des betreffenden Organs Korpuskeln durch das Organ durchgehen. Je mehr Anastomosen offen sind, um so mehr Kügelchen müssen auf die venöse Seite gelangen. Mit dem Venenblut aber werden sie in die Lunge transportiert werden und dort stecken bleiben. Man kann daher aus dem Verhältnis der im injizierten Organ einerseits und der in der Lunge andererseits gefundenen Radioaktivität errechnen, welcher Anteil des zufließenden Arterienblutes durch das Capillargebiet des betreffenden Organs und welcher durch arterio-venöse Kurzschlüsse geflossen ist.

Das Problem der *Deposition* eines Stoffes interessiert den Pharmakologen vor allem im Hinblick auf die möglichen Angriffspunkte eines Pharmakons. Es ist zwar selbstverständlich keineswegs etwa so, daß ein Pharmakon in dem Organ, in welchem es am stärksten angereichert gefunden wird, eo ipso auch die stärksten Wirkungen entfalten müßte. Immerhin wird man unter Umständen doch eine mehr oder weniger starke Akkumulierung in einem Organ mit gewissen Besonderheiten einer Wirkung in Zusammenhang bringen können. Die Möglichkeit, ein Pharmakon radioaktiv markieren zu können, bietet gerade für solche Untersuchungen sehr große Vorteile. Sie erlaubt nämlich nicht nur, die Substanzen an den verschiedenen Orten leicht wieder aufzufinden und ihre Konzentration in einfacher Weise exakt zu bestimmen, sondern sie erlaubt vor allem, sich bei der Applikation der Stoffe mit den Mengen zu begnügen, die für die interessierende Wirkung gerade erforderlich sind. Dies ist ein wesentlicher Vorteil, denn bekanntlich kann die relative Deposition eines Stoffes in den verschiedenen Organen je nach der Dosierung variieren. Eine therapeutische Dosierung kann eine andere Organverteilung nach sich ziehen als eine toxische.

Bei dieser Gelegenheit soll auch erwähnt werden, daß man bei diesen Untersuchungen — wie auch bei den meisten anderen Untersuchungen mit radioaktiv markierten Pharmaka — auf eine gleichzeitige chemische Bearbeitung oft nicht wird verzichten können. Man wird sich ja nicht damit zufrieden geben können, in einem Organ diese oder jene Menge an Radioaktivität aufgefunden zu haben, sondern man sollte gleich auch wissen, ob die Radioaktivität auf die Anwesenheit des unveränderten Pharmakons oder aber auf Metaboliten desselben zurückzuführen ist.

Zur Illustration der Vorteile, welche die Isotopenanwendung für die Probleme der Deposition bietet, möchte ich Untersuchungen erwähnen, die Fischer, Sjoerdsma u. Johnson[8] kürzlich mit radioaktivem Digitoxin durchgeführt haben. Danach sollen Katzen nach intravenöser Injektion relativ mehr Digitoxin an ihren Herzen fixieren als beispielsweise Ratten. Vielleicht hängt das doch irgendwie damit zusammen, daß Katzen auf Herzglukoside empfindlicher sind als Ratten. Die erwähnten Autoren behaupten außerdem, daß das Bindungsvermögen des Herzens für Digitoxin bei Ratten größer werde, wenn die Tiere sich in einem Zustand von Kreislaufdekompensation befänden.

Die Vorteile, welche die Isotopen für die Bearbeitung von *Eliminationsproblemen* bieten, brauchen hier nur angedeutet zu werden. Sie liegen

vor allem in der Leichtigkeit, mit der man radioaktiv markierte Stoffe im Organismus selbst oder in seinen Ausscheidungsprodukten zunächst einmal qualitativ nachweisen und damit auffinden, und dann in sehr kleinen Mengen quantitativ genau bestimmen kann. Zur Illustration diene ein einfaches Beispiel aus der Toxikologie: Clark, Stannard u. Fenn[6] haben an Mäusen untersucht, ob die Elimination des CO wirklich nur darin besteht, daß der Stoff unverändert durch die Lungen wieder abgeraucht wird, oder ob eventuell auch eine — nennenswerte — Verbrennung möglich ist. Sie haben dazu die Tiere einer Atmungsluft ausgesetzt, die zu 0,8 Promille CO enthielt, das mit ^{14}C markiert war. Dabei zeigte sich, daß die Mäuse etwa 20% des effektiv aufgenommenen CO zu CO_2 oxydierten, was an der Radioaktivität der exhalierten CO_2 relativ leicht meßbar war.

Beim Studium von Problemen betr. den *Wirkungsmechanismus eines Stoffes* schließlich eröffnet die Verwendung von Isotopen vielseitige Möglichkeiten, wie an den folgenden drei Beispielen gezeigt werden soll:

Das erste Beispiel betrifft die sogenannte „Verdrängung vom Receptor" als letzte Ursache eines gegenseitigen Antagonismus zweier Pharmaka. Antagonismus durch Verdrängung stellt eine Möglichkeit dar, die theoretisch sicher unbestritten ist . . . die sicher sehr interessant ist . . . die heute sehr oft postuliert wird . . . und die doch so sehr schwer wirklich zu beweisen ist. Wir haben seinerzeit[2] für den Antagonismus Histamin/Antihistamin den Beweis zu führen versucht durch eine Versuchsanordnung, auf die hier — zum besseren Verständnis des Folgenden — kurz nochmals eingegangen werden muß:

Abb. 1a illustriert zunächst, daß nach einer kurzdauernden Einwirkung von Pyribenzamin (PBZ) die Histaminempfindlichkeit des Darmes nur langsam wieder zur Norm zurückkehrt, d. h. die Pyribenzaminwirkung ist schwer reversibel. Wenn man nun annimmt, daß diese schwere Reversibilität auf einer entsprechend festen Haftung des PBZ an seinen Receptoren beruht, so wird man am gleichen Präparat ohne weiteres abklären können, ob der Antagonismus PBZ/Histamin wirklich auf einer echten Verdrängung beruht oder nicht. Man braucht nur denselben Versuch im Prinzip noch einmal zu wiederholen (Abb. 1b), nun aber die kontinuierliche Ausspülung des PBZ (IIIb) anfänglich (d. h. während etwa ½ min; IIIa) mit einer Tyrode-Lösung durchzuführen, die Histamin enthält, in Konz. $5 \cdot 10^{-5}$. Diese Histaminkonzentration ist imstande, die PBZ-Hemmung zu durchbrechen und zu einer manifesten Histaminkontraktur zu führen (siehe Abb. 1b, IIIa). Anschließend wird in gewohnter Weise mit der Tyrodespülung fortgefahren (IIIb). Wenn nun der Antagonismus „Histamin/PBZ" auf einer echten gegenseitigen Verdrängung vom gleichen Receptor beruhen würde, so müßte das sonst festhaftende PBZ während der Periode IIIa seine Bindung mit dem Receptor verloren haben und infolgedessen leicht ausgespült worden sein. Das aber hinwiederum müßte zur Folge haben, daß der Darm sehr schnell — also beispielsweise schon 1 min nach Beginn der Ausspülung des PBZ — seine normale Histaminempfindlichkeit wiedererlangt hätte. Dies jedoch ist — wie Abb. 1b zeigt — nicht der Fall. Die Rückkehr der Histaminempfindlichkeit entwickelt sich wie in Abb. 1a. Das aber heißt, daß der Antagonismus „Histamin/PBZ" *nicht* auf einer echten Verdrängung beruhen kann.

Die Beweiskraft dieses Experimentes steht und fällt mit der Voraussetzung, daß die in Abb. 1a verminderte Histaminempfindlichkeit des Darmes darauf beruht, daß das PBZ tatsächlich noch an den Receptoren sitzt und sie blockiert. Nun wäre aber doch auch denkbar, daß die fehlende Ansprechbarkeit auf Histamin auf eine Receptorschädigung zurückzuführen wäre, die noch eine Zeitlang nachwirkt, nachdem das PBZ bereits wieder vom Receptor entfernt ist. Diese Möglichkeit nun muß man ausschließen — oder aber bestätigen — können dadurch, daß man die gleiche

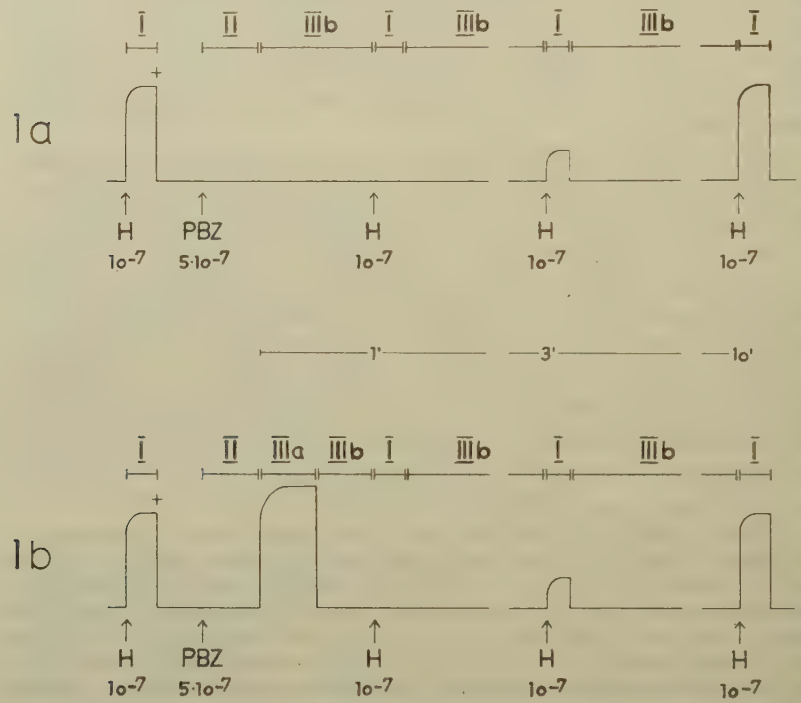


Abb. 1. Schematisches Kymogramm eines Stückchens Meerschweinchenileum in vitro. + = Spülen. I. Testierung auf Histaminempfindlichkeit (mit 10^{-7} Histamin); II. Einwirkenlassen des Antihistaminikums (PBZ in Konz. $5 \cdot 10^{-7}$); III. a) Kontinuierliches Spülen mit einer Tyrodelösung, die Histamin in Konz. $5 \cdot 10^{-8}$ enthält; b) Kontinuierliches Spülen mit Tyrodelösung.

Untersuchung mit radioaktivem PBZ durchführt. Man hätte zu diesem Zwecke der abfließenden Spülflüssigkeit periodisch Proben zu entnehmen und auf Radioaktivität zu untersuchen. Wenn die verminderte Histaminempfindlichkeit auf tatsächlich noch haftendes PBZ zurückzuführen ist, so muß man (von einem gewissen Zeitpunkt an) zwischen der durch den Spülprozeß aus dem Darm noch zu eluierenden Radioaktivität einerseits und der Rückkehr der Histaminempfindlichkeit andererseits eine sinngemäße Abhängigkeit finden, nämlich etwa eine umgekehrte Proportionalität. Ist diese vorhanden, dann ist die oben gegebene Beweisführung

endgültig, d. h. der Antagonismus Histamin/PBZ beruht nicht auf einer echten Verdrängung. Ist sie nicht vorhanden, dann ist zwar keineswegs eine echte Verdrängung bewiesen, sondern es ist nur gezeigt, daß die Versuchsanordnung zur Entscheidung der Frage nicht geeignet war.

Diese ergänzende Untersuchung konnte bisher leider noch nicht durchgeführt werden, da wir ein genügend radioaktives PBZ noch nicht haben erhalten können. Nichtsdestoweniger dürfte es interessant sein, sich zu überlegen, inwiefern man hoffen darf, durch eine solche Untersuchung die gestellte Frage überhaupt beantworten zu können. Der begrenzende Faktor besteht in der Menge PBZ, die im Moment der manifesten Wirkung tatsächlich an den Receptoren gebunden ist, oder — anders ausgedrückt — in der Empfindlichkeit des Nachweises für radioaktives PBZ. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß im Routineverfahren — ohne besondere Hilfsmittel, wie fensterloses Zählrohr usw. — eine mit ^{14}C markierte CO_2 noch in Mengen von 0,000′1 Gamma mit einer Genauigkeit von etwa $\pm 8\%$ nachgewiesen werden kann, und daß ein PBZ zur Verfügung stünde, dessen sämtliche C-Atome mit ^{14}C markiert sind, so dürfte man eine Beantwortung der Fragestellung dann erhoffen, wenn im Moment der manifesten PBZ-Wirkung gewichtsmäßig etwa dreißig Billionstel ($3 \cdot 10^{-11}$) des Darmstückchens aus PBZ bestehen. Das heißt die Erfolgschancen dürften ausgesprochen gut sein (und zwar auch noch dann, wenn die spezifische Aktivität des PBZ etwa 100mal kleiner ist!).

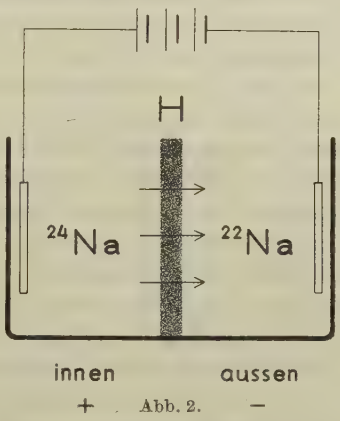


Abb. 2.

Das zweite Beispiel soll die großen Vorteile illustrieren, welche die Isotopen für das Studium von Fragen der *Permeation* bieten. Die Bauchhaut des Frosches ist ein beliebtes Objekt für diesbezügliche Experimente. Abb. 2 zeigt schematisch ein Stück solcher Haut (H), ausgespannt als Trennwand zwischen zwei Gefäßen. Wenn sich in beiden Gefäßen RINGER-Lösung befindet, liegt an der Haut bekanntlich eine Potentialdifferenz von etwa 60 Millivolt. Die Außenseite ist gegenüber der Innenseite elektro-negativ. Man kann nun bekanntlich dieses Spannungsfeld zunichte machen dadurch, daß man die Membran kurz schließt, d. h. in der Gegenrichtung einen kontinuierlichen Strom durchgehen läßt, der gerade so stark ist, daß die normalerweise bestehende Spannung ausgeglichen wird. An einer solchen Anordnung kann unter anderem interessieren, welche Ionen den Ladungsausgleich tatsächlich vornehmen. USSING[12] hat mit Hilfe von Radioisotopen beweisen können, daß es die Na-Ionen sein müssen. Wenn er nämlich an der Innenseite eine RINGER-Lösung verwendete, die radioaktives ^{24}Na enthielt, so konnte er feststellen, daß ^{24}Na-Ionen durch die Haut durchwanderten und in das Gefäß an der Außenseite übertraten. Die Menge der tatsächlich durchgewanderten Na-Ionen repräsentierte gesamthaft interessanterweise

gerade eine solche elektropositive Ladung, daß man folgern durfte, der Spannungsausgleich in der Haut würde ausschließlich durch Na-Ionen bewerkstelligt, die von innen nach außen wandern. Ohne Radioisotopen wäre diese spezielle Frage wohl nicht zu klären gewesen. Die Anreicherung nämlich, die das Na durch den Spannungsausgleich an der Außenseite erfährt, ist zu gering, als daß sie mit chemischen Nachweismethoden hätte erfaßt werden können.

Mit der Feststellung, daß gerade etwa so viele Na-Ionen von innen nach außen wandern, als dem gesamten Stromdurchgang durch die Haut entspricht, ist nun aber noch nicht absolut sicher bewiesen, daß der Spannungsausgleich ausschließlich durch diese Na-Ionen bewerkstelligt wird. Die Übereinstimmung könnte eine zufällige sein. Es könnte gleichzeitig eine gewisse Menge von Na-Ionen von außen nach innen gewandert sein. Über diese Möglichkeit kann die Versuchsanordnung zunächst nichts aussagen. Sie kann es aber dann, wenn man gleichzeitig auch die Na-Ionen an der Außenseite markiert, und zwar so, daß sie von denen an der Innenseite unterscheidbar sind. Ussing hat das dadurch realisiert, daß er auf der Außenseite der Haut eine Ringer-Lösung verwendete, die radioisotopes ^{22}Na enthielt (das sich von ^{24}Na auf Grund der verschiedenen Energie der emittierten Strahlung sowie auf Grund der verschiedenen Halbwertszeiten genügend unterscheidet). Tatsächlich ging unter diesen Bedingungen sozusagen kein ^{22}Na von außen nach innen, womit dann endgültig bewiesen war, daß der Spannungsausgleich innerhalb der Haut fast ausschließlich durch Na-Ionen bewerkstelligt werden dürfte, die von innen nach außen wandern. Erst die Möglichkeit der *Doppelmarkierung* hat den endgültigen Beweis zugelassen.

Das letzte Beispiel soll wieder etwas andere Möglichkeiten der Isotopenanwendung aufzeigen. Keynes u. Lewis[9] haben das vielbearbeitete Problem der Ionenverschiebungen bei der Nervenaktivität untersucht. Sie haben dazu mit einzelnen isolierten Riesen-Axonen von Sepia experimentiert, die sie elektrisch reizten. Rein chemische Nachweismethoden können für eine solche Fragestellung nicht genügen, denn die in ein einzelnes Axon ein- oder aus ihm austretenden Substanzmengen sind zu klein. Bei Verwendung von radioaktiven Isotopen dagegen braucht man nur die Außenflüssigkeit in geeigneter Weise zu markieren und wird dann relativ leicht feststellen können, welche Ionen unter dem Einfluß der Aktivität des Nerven in das Axon eingedrungen sind und in welcher Menge. Schwieriger ist es hingegen, den Austritt von Ionen aus den Axonen quantitativ erfassen zu können. Keynes u. Lewis sind hier folgendermaßen vorgegangen: Sie haben bestimmt, wieviel von den in Frage stehenden Ionen überhaupt in den Axonen drin sind und welche Verminderung oder Vermehrung ihre Zahl durch die Aktivität des Axons erfährt. Sie haben dazu einesteils eine bzw. mehrere unerregte, anderen

Teils einige in bestimmter Weise erregte Axone getrocknet, gewogen, in kleine Behälter abgefüllt und dann nachträglich mit Neutronen irradiiert. Dadurch entstand aus dem ^{23}Na das radioaktive ^{24}Na und aus dem ^{39}K das radioaktive ^{42}K. Die beiden können auf Grund ihrer Strahlung voneinander unterschieden werden. Andere Strahler, die mit ihnen verwechselt werden könnten, sollen bei der Irradiierung des Axonmaterials eigentlich nicht entstehen können, mit Ausnahme von ^{32}P, das aber auf Grund seiner ganz anderen Halbwertszeit von ^{42}K unterschieden werden kann. Gleichzeitig haben sie eine ganze Skala von künstlich zusammengesetzten Proben bekannten K- und Na-gehaltes *dem gleichen Neutronenstrom ausgesetzt.* Anschließend konnten die, die Axone enthaltenden, Proben auf Grund ihrer Radioaktivität gegen die Proben bekannter Zusammensetzung vergleichend beurteilt werden und in dieser Weise der effektive Gehalt der Axone an Na und K testiert werden. (Der Vollständigkeit halber soll erwähnt werden, daß die Verf. auf Grund ihrer Versuche angegeben haben, daß ein elektrischer Impuls pro cm^2 Axonoberfläche $3{,}8 \cdot 10^{-12}$ Mol.Na eintreten und $3{,}4 \cdot 10^{-12}$ Mol.K austreten lasse.)

Diese paar Beispiele dürften genügend dargetan haben, daß die Heranziehung von Isotopen der pharmakologischen Forschung tatsächlich neue und aussichtsreiche Möglichkeiten eröffnet. Der durch sie gegebene Fortschritt beruht im Prinzip auf zwei Momenten, nämlich 1. auf der Möglichkeit, einen Stoff zu markieren und ihn damit von anderen Stoffen gleicher Art jederzeit unterscheiden zu können, und 2. auf der Möglichkeit, einen solchermaßen markierten Stoff leicht, exakt und in geringen Mengen nachweisen zu können. Nicht immer freilich wird nur auf diese Momente abgestellt, wenn es gilt zu entscheiden, ob für eine gewisse Fragestellung Isotope herangezogen werden sollen oder nicht. Sehr oft auch wird leider nur deshalb mit Isotopen gearbeitet, weil sie nun einmal „modern" sind. Eine neue Mode aber hat bekanntlich auch in der Wissenschaft ihre zwei Seiten: manchen Problemen steht sie gut an; andere dagegen wären in der alten Aufmachung eigentlich hübscher.

Literatur.

[1] Bucher, K.: Helvet. physiol. Acta **6**, 821 (1948). — [2] Bucher, K.: Helvet. physiol. Acta **7**, 315 (1949). — [3] Bucher, K., u. H. Emmenegger: Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. **7**, 418 (1951). — [4] Bucher, K., u. H. Emmenegger: Arch. f. Kreislaufforschg. **18**, 94 (1952). — [5] Bucher, K., u. M. Schär: Experientia **8**, 434 (1952). — [6] Clark, R. T., J. N. Stannard and N. O. Fenn: Science (Lancaster, Pa.) **109**, 615 (1949). — [7] Emmenegger, H., A. Hürlimann u. K. Bucher: Helvet. physiol. Acta **9**, 254 (1951). — [8] Fischer, C. S., A. Sjoerdsma u. R. Johnson: Circulation **5**, 496 (1952). — [9] Keynes, R. D., and P. R. Lewis: Nature (Lond.) **165**, 809 (1950). — [10] Mumenthaler, A.: (im Druck). — [11] Schär, M.: Arch. internat. pharmacodynamie (im Druck). — [12] Ussing, H. H.: Z. Elektrochem. **55**, 470 (1951) und weitere Arbeiten.

Diskussion. Hartmann: P^{32} kann zur Prüfung der Wirksamkeit lipotroper Substanzen verwandt werden. Der Einbau von P^{32} in die Lipoide von Leber und Blut sinkt bei O_2-Mangel, CCl_4-Vergiftung, Lebercirrhose und bei einer Kost, die arm an Cholinmethionin und Inositol ist. Durch Methionin, Cholin und Inositol läßt sich die Einbauquote von P^{32} in die Lipoide steigern. Damit ist ein Maß für die Größe und Geschwindigkeit des Lipoidumsatzes gegeben.

W. Maurer (Köln): Neubildungsrate einzelner Serum-Eiweiß-Fraktionen nach Gabe von S^{35}-Methionin und Transportfunktion der Serum-Eiweiß-Fraktionen für Phosphatide und die organischen Jodverbindungen des Serums (Papierelektrophorese von S^{35}-, P^{32}- und J^{131}-markiertem Serum-Eiweiß).

Mit 4 Textabbildungen.

Es soll hier über Untersuchungen berichtet werden, welche im letzten Jahre an der Kölner Medizinischen Universitätsklinik zusammen mit Frl. Niklas und Herrn Müller durchgeführt worden sind. Methodisch stellen diese Versuche eine Kombination der in den letzten Jahren entstandenen Papierelektrophorese mit der Verwendung radioaktiver Isotope dar. Es ist das Ziel dieses Referates, an Hand der vorgetragenen Beispiele die großen Möglichkeiten darzulegen, welche in der Anwendung radioaktiver Isotope enthalten sind. Die Empfindlichkeit ihres Nachweises geht in vielen Fällen über das mit anderen Methoden Erreichbare wesentlich hinaus. Von besonderer Bedeutung ist die Möglichkeit einer Messung von Umsatzraten im physiologischen Gleichgewicht, was anders nicht durchgeführt werden kann.

1. Messung der Neubildungsrate einzelner Serum-Eiweiß-Fraktionen nach oraler Gabe von S^{35}-Methionin.

Seit den Versuchen von Schoenheimer und Rittenberg wissen wir, daß alle Körperbausteine, speziell auch die Serumproteine, in einem dauernden Auf- und Wiederabbau begriffen sind. Die Umsatzgeschwindigkeiten können nur mittels einer radioaktiven Markierung der Proteine gemessen werden.

Die bisher vorliegenden Arbeiten haben gezeigt, daß die Umsatzrate auch der Serum-Eiweißkörper relativ hoch ist. Im allgemeinen wurde das ungetrennte Gesamt-Eiweiß untersucht, in wenigen Fällen wurde eine Trennung in Albumine und Globuline durch Salzfällung durchgeführt. In Anbetracht der besonderen Funktionen der einzelnen Globulinfraktionen im Organismus schien uns eine Ausdehnung dieser Versuche auf einzelne getrennte Serum-Eiweiß-Fraktionen von Interesse zu sein. Das übliche, elektrophoretisch gewonnene Serum-Eiweiß-Diagramm hängt sowohl von der Bildungs- wie auch der Abbaugeschwindigkeit der einzelnen Fraktionen ab. Die jeweils vorhandene absolute Menge entspricht dem Gleichgewicht beider Prozesse. Eine im pathologischen Falle

eintretende Änderung kann also zwei verschiedene Ursachen haben. Die im Folgenden beschriebene Untersuchung ist ein Teil eines allgemeineren Programms, welches die Untersuchung des Eiweiß-Umsatzes in normalen und pathologischen Fällen, wie Leber- und Nierenschäden, Infektionskrankheiten, akutem Blutverlust u. a. m. zum Ziele hat.

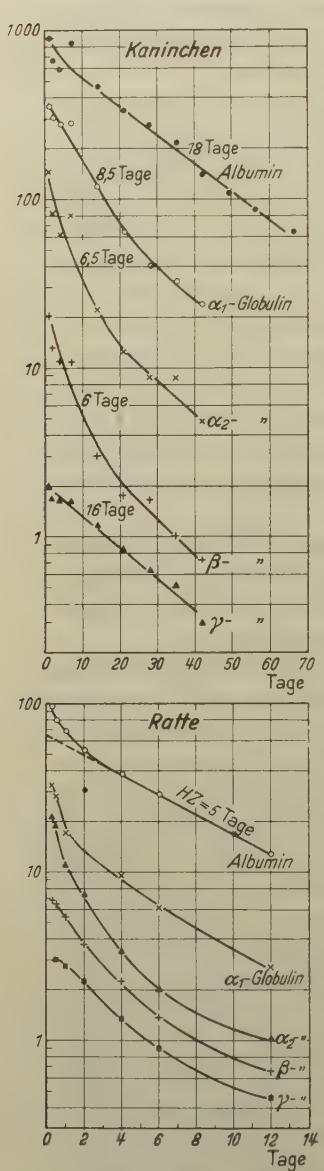
Wir haben Spurendosen von Methionin, welches mit radioaktivem Schwefel markiert war, an Ratten und Kaninchen verfüttert und anschließend den Einbau in die einzelnen Serum-Eiweiß-Fraktionen gemessen. Das radioaktiv markierte S^{35}-Methionin wurde durch Biosynthese mit der Hefe Torula utilis aus anorganischem radioaktivem S^{35} hergestellt[1]. Durch Wahl eines geeigneten Nährbodens kann man erreichen, daß der vorgelegte anorganische S^{35} quantitativ in organische Schwefelverbindungen übergeführt wird. Etwa 40% dieser markierten organischen Schwefelverbindungen bestehen aus Methionin. Zur Isolierung des S^{35}-Methionins wurde die Hefe hydrolysiert und das Hydrolysat papierchromatographisch getrennt. Das S^{35}-Methionin liegt gut getrennt von den anderen S^{35}-markierten Verbindungen. Man kann so leicht Präparate herstellen, welche in 1 cm^3 Wasser rund 1 mg Methionin mit einer Radioaktivität von mehreren mC enthalten.

Nach der oralen Applikation der beschriebenen S^{35}-Methionin-Präparate wurde in regelmäßigen Zeitabständen Blut entnommen und das Serum papierelektrophoretisch getrennt. Danach wurden die Papierstreifen in der üblichen Weise mit Amidoschwarz angefärbt.

Das auf den Elektrophoresestreifen enthaltene Eiweiß besteht einmal aus dem Eiweiß, welches bereits vor der Applikation des S^{35}-Methionins im Blutkreislauf vorhanden war, und dann aus den Eiweißmolekülen, welche nach der Applikation neu gebildet worden sind. Diese sind durch den Einbau des jetzt vorhandenen S^{35}-Methionins radioaktiv. Ihre Lage im Elektrophoresediagramm und ihre relative Menge kann mit einem Geiger-Müller-Zählrohr bestimmt werden. Die so gewonnenen Verteilungskurven der S^{35}-Aktivität im Elektrophoresediagramm lassen sich in einzelne Aktivitätsmaxima an der Stelle der bekannten Serum-Eiweiß-Fraktionen zerlegen. Die Fläche dieser Maxima ist ein Maß für die Neubildung der betreffenden Fraktion bis zu dem gewählten Zeitpunkt der Blutentnahme.

Auf eine Wiedergabe solcher Verteilungskurven der S^{35}-Aktivität muß an dieser Stelle verzichtet werden[2, 3]. Bereits 15 min nach oraler Gabe des S^{35}-Methionins lassen sich an der Stelle der Albumine radioaktive Albumine nachweisen. Ihre Intensität steigt dann mit der Zeit rasch an bis zu einem Maximum bei etwa 6 Std. Verglichen mit den Albuminen ist die Neubildung der Globuline zunächst gering. Interessanterweise bestehen große Unterschiede im Verhalten der einzelnen Globulin-Fraktionen. So zeigen die nur in geringer Menge vorhandenen α_2-Globuline zunächst eine Neubildung, welche stärker ist als die aller

anderen Globulin-Fraktionen. Die β- und γ-Globuline steigen, verglichen damit, viel langsamer an. Ihr Anstieg dauert aber länger als derjenige der α_2-Globuline. Auf diese Weise ergibt sich 24 Std nach Versuchsbeginn eine Kurve der S^{35}-Aktivitätsverteilung, welche mit den bekannten Elektrophoresebildern große Ähnlichkeit hat. Das beobachtete unterschiedliche Verhalten der einzelnen Globulin-Fraktionen ist ein Hinweis auf ihren unterschiedlichen Bildungsmechanismus.



Es wurde dann die Fläche unter den einzelnen Aktivitätsmaxima ausplanimetriert und über der Zeit graphisch aufgetragen. Nach einem Maximum bei 5—7 Std fallen alle Fraktionen zuerst schnell und dann langsamer ab. Abb. 1 enthält eine Reihe solcher Kurven. Der an den ersten beiden Tagen zunächst sehr steile Abfall wird in Übereinstimmung mit der Literatur als eine Durchmischung des aktiven Serum-Eiweißes mit inaktivem, extravasculärem und extracellulärem Eiweiß erklärt. Diese Durchmischung führt zu einer schnellen Verdünnung des radioaktiven Serum-Eiweißes und dementsprechend zu einer raschen Abnahme der spezifischen Radioaktivität (S^{35}-Aktivität pro 1 mg Eiweiß). Der anschließende weitere Abfall der Radioaktivität der einzelnen Fraktionen wird durch den Wiederabbau der markierten Eiweißmoleküle erklärt. Nach Abb. 1 fallen in allen untersuchten Fällen die Albumine exponentiell ab. Das würde bedeuten, daß die Eiweißkörper im Gegensatz zu den Erythrocyten keine feste Lebensdauer haben. Die Wahrscheinlichkeit ihres Abbaues ist unabhänig von ihrem jeweiligen Lebensalter.

Abb. 1. Zeitlicher Abfall der S^{35}-markierten Serum-Eiweiß-Fraktionen (Ordinate: Log. der S^{35}-Aktivität).

Abb. 1 a zeigt, daß die Hälfte der Albumine in rund 5 Tagen abgebaut wird. Genau die gleiche Menge muß also in dieser Zeit neu gebildet worden sein. Die Abfallskurve der einzelnen Globulin-Fraktionen folgt

keinem Exponentialgesetz. Die Kurven haben die Tendenz, flacher zu werden. Dieses besondere Verhalten bedarf noch weiterer Aufklärung. Insgesamt wird aber die Halbwertszeit der Globulin-Fraktionen derjenigen der Albumine ähnlich, evtl. kürzer, sein. Bei einer Halbwertszeit von 5 Tagen werden täglich 14% des Gesamt-Serum-Eiweißes neugebildet. Diese Menge ist überraschend groß. Sie entspricht etwa $^1/_7$ des gesamten Eiweißes der Leber.

Es sind Versuche im Gange, diese Untersuchungen in der eingangs erwähnten Weise auch für experimentell pathologische Fälle durchzuführen. Auch die besonders interessierende Ausdehnung auf den Menschen wird bei einer Änderung der Technik möglich sein. Da hierbei nur geringe Mengen von Radioaktivität gegeben werden können, ist die Trennung größerer Mengen von Serum erforderlich.

2. Transportfunktion einzelner Serum-Eiweiß-Fraktionen für Phosphatide.

Zu dieser Frage sind eine Reihe von Arbeiten veröffentlicht worden. Dabei wurden etwa mit der Tiseliusschen Apparatur oder mittels Salzfällungen die einzelnen Fraktionen getrennt und mittels rein chemischer Methoden ihr Gehalt an Phosphatiden bestimmt. So fanden z. B. Blix, Tiselius, Svensson bei der Untersuchung von drei menschlichen Seren, daß die Albuminfraktion etwas mehr als ein Drittel der Phosphatide enthielt, der Rest verteilte sich auf die Globulin-Fraktionen, wobei ein relativ großer Anteil auf die β-Globuline entfiel. Die hier mitgeteilten Versuche beziehen sich auf Ratten- und Kaninchen-Seren[4, 5]. Es sei vorweggenommen, daß sich bei diesen tierischen Seren lediglich eine sehr lose Kopplung der Phosphatide an die Albumine nachweisen ließ. Die Existenz von entsprechenden Proteiden unter in vivo-Verhältnissen muß demnach angezweifelt werden.

Ratten und Kaninchen wurde Radio-Phosphor P^{32} als anorganischer Phosphor subcutan injiziert. Bei der laufenden Synthese der Phosphatide im Organismus wird dieser P^{32} unter anderem in diese eingebaut, so daß nach einem Tag ein Teil mit Radio-Phosphor markiert ist. Aus eigenen Versuchen und denen anderer Autoren ist bekannt, daß die P^{32}-markierten organischen Phosphorverbindungen, welche sich nach einem Tage im Serum befinden, zu etwa 70—90% aus Phosphatiden bestehen.

Einen Tag nach P^{32}-Injektion wurde Blut entnommen und das Serum papierelektrophoretisch getrennt. Danach wurde mit einem Geiger-Müller-Zählrohr die Aktivitätsverteilung längs des Elektrophorese-streifens gemessen. Dabei findet sich rund die Hälfte der P^{32}-Aktivität im Bereich der Serum-Eiweiß-Fraktionen. Der Rest bildet ein Maximum nach der anodischen Seite mit einer Wanderungsgeschwindigkeit, welche rund doppelt so groß wie diejenige der Albumine ist. Dieses Maximum entspricht dem im Serum vorhandenen P^{32}-markierten anorganischen Phosphor. Der im Bereich der Serum-Eiweiß-Fraktionen gefundene

Radiophosphor liegt zweifellos in organischer Bindung vor. Im einzelnen konnte ausgeschlossen werden, daß es sich um adsorbierten anorganischen Phosphor bzw. um einen Phosphoraustausch zwischen inaktiven organischen Phosphorverbindungen und dem anorganischen P^{32} handelt. Der im Bereich der Serum-Eiweiß-Fraktionen gefundene P^{32} entspricht also organischen Phosphorverbindungen — nach dem oben Gesagten im wesentlichen den Phosphatiden —, welche während der Versuchsdauer von 24 Std durch Biosynthese entstanden sind. Durch Behandlung der Papierstreifen mit Trichloressigsäure kann man den säurelöslichen Phosphor herauslösen. Allein die Phosphatide bleiben auf dem Papierstreifen zurück.

Bei relativ kurzzeitigen Elektrophoresen, bei denen die einzelnen Serum-Eiweiß-Fraktionen nur ungenügend getrennt sind, fand sich ein P^{32}-Maximum an der Stelle der Albumine mit einem Ausläufer zur Aufsatzstelle hin. Bei der Ausdehnung der Elektrophoresedauer auf die üblichen Zeiten blieb dieses Maximum überraschenderweise nicht erhalten. Das bedeutet, daß die Phosphatide nur eine Zeitlang dieselbe Wanderungsgeschwindigkeit wie die Albumine haben und dann früher oder später diese Bindung aufgeben und auf dem Streifen liegen bleiben.

Dieser Prozeß wurde genauer an isolierten Albuminen studiert. Dazu wurden aus einem Elektrophoresestreifen die Albumine herausgeschnitten und eluiert. Dieses Präparat enthielt dann Albumine zusammen mit P^{32}-markierten Phosphatiden, welche bei diesem ersten Versuch mit den Albuminen gewandert waren. Dieses Präparat wurde dann einer zweiten Elektrophorese unterworfen. Die angefärbten Streifen enthalten, wie zu erwarten, als einzige Fraktion nur Albumine. Die P^{32}-Aktivität bildete aber keineswegs ein Maximum an der Stelle dieser Albumine, sondern lag im wesentlichen in der Nähe der Aufsatzstelle mit einem schwachen Ausläufer bis zur Stelle der Albumine hin. Dieser Versuch zeigt in aller Deutlichkeit, daß die anfänglich vorhandene Bindung der Phosphatide an die Albumine im zweiten Versuch nicht mehr wirksam war. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß auch in der Arbeit von Blix, Tiselius, Svensson über ähnliche Versuche berichtet wurde, welche unseres Erachtens nicht die genügende Beachtung gefunden haben. Blix, Tiselius, Svensson isolierten mit der quantitativen Apparatur nach Tiselius reine Albumine und fanden, daß bei einem zweiten Versuch die in ihnen enthaltenenen Phosphatide nicht quantitativ mitgenommen wurden, sondern zu einem erheblichen Teil zurückblieben.

Es lag nun nahe, anzunehmen, daß diese Erscheinung mit der Entmischung des Serums ursächlich zusammenhängt. Diese Entmischung, welche bei der Papierelektrophorese noch weitgehender ist als bei der Methode nach Tiselius, ist aber unumgänglich notwendig, da nur auf diesem Wege die Existenz der einzelnen Fraktionen „optisch" sichtbar gemacht werden kann.

Es soll nun im folgenden ein neues Verfahren beschrieben werden, welches gestattet, eine Serumprobe in einem Milieu konstant bleibender Eiweißkonzentration in ihre Fraktionen zu zerlegen. Zu diesem Zwecke wurden der Papierstreifen und die beiden Elektrodengefäße nicht mit reiner Pufferlösung, sondern mit einem Gemisch von Pufferlösung und Serum desselben Tieres bzw. der gleichen Tierart beschickt. Man sieht sofort ein, daß unter diesen Umständen während der Elektrophorese die Eiweiß- und Salzkonzentrationen an jeder Stelle des Papierstreifens konstant bleiben. Selbstverständlich wird auch unter diesen Bedingungen eine auf den Streifen aufgesetzte Serum-Probe in ihre einzelnen Fraktionen zerlegt. Von besonderer Wichtigkeit ist aber, daß sich bei dieser Zerlegung jede einzelne Komponente der aufgesetzten Eiweißprobe dauernd in einem konstanten Eiweiß- und Salzmilieu befindet. Natürlich kann die Lage dieser Fraktionen durch eine Anfärbung des Eiweißes „optisch" nicht mehr sichtbar gemacht werden, da der ganze Streifen gleichmäßig Serum enthält.

Man kann diese Sichtbarmachung aber auf einem neuen Wege dadurch erhalten, daß man die Eiweißmoleküle der aufgesetzten Probe mit einem zweiten radioaktiven Isotop gleichfalls markiert. Gleichzeitig mit dem P^{32} wurde deshalb den Tieren S^{35}-Methionin oral gegeben. Genau wie im ersten Abschnitt beschrieben, wird dieses dann in die einzelnen Eiweiß-Fraktionen eingebaut. Die zu untersuchende Eiweißprobe ist damit zweifach radioaktiv markiert, und zwar die Phosphatide mittels P^{32} und die Serum-Eiweiß-Fraktionen mittels S^{35}. Die Lage der letzteren kann jetzt an der Lage der entsprechenden S^{35}-Maxima auf dem Elektrophoresestreifen erkannt werden. Meßtechnisch lassen sich die auf dem Elektrophoresestreifen gleichzeitig vorhandenen S^{35}- (= Serum-Eiweiß-Fraktionen) und P^{32}-Aktivitäten (= Phosphatide) leicht trennen. Die energiearmen β-Teilchen des S^{35} sind mit 0,1 mm Aluminium völlig absorbierbar, während die β-Teilchen des P^{32} nur um wenige Prozente geschwächt werden. Nach Abdeckung der Elektrophoresestreifen mit 0,1 mm Aluminium erhält man so zunächst die Lage der Phosphatide. Letztere wurden anschließend mit Phosphatidlösungsmitteln (Methanol-Essigsäure) aus den Streifen herausgelöst. Danach ergab sich die Lage der Eiweiß-Fraktionen aus der Lage der S^{35}-Maxima.

Diese Versuchsbedingungen unterscheiden sich von den physiologischen Verhältnissen nur noch durch die Anwesenheit des Puffers im Serum. Dieser Einfluß kann dadurch untersucht werden, daß man in den aufeinanderfolgenden Versuchen den Anteil des Puffers im Serum-Puffer-Gemisch erniedrigt. Die Ergebnisse sollten sich dann den in vivo-Verhältnissen „asymptotisch" nähern.

Abb. 2 zeigt den Einfluß eines Serumzusatzes zum Puffer auf die Lage der Phosphatide im Serum-Eiweiß-Spektrum. Während bei der gewöhnlichen

Elektrophorese mit P^{32}-Aktivität eine breite Verteilung von der Aufsatzstelle bis über die Albumine hinaus zeigt, befindet sich bei Serumzusatz ein ausgesprochenes Maximum an der Stelle der Albumine. Die Versuche zeigten im einzelnen, daß sich die Lage dieses P^{32}-Maximums

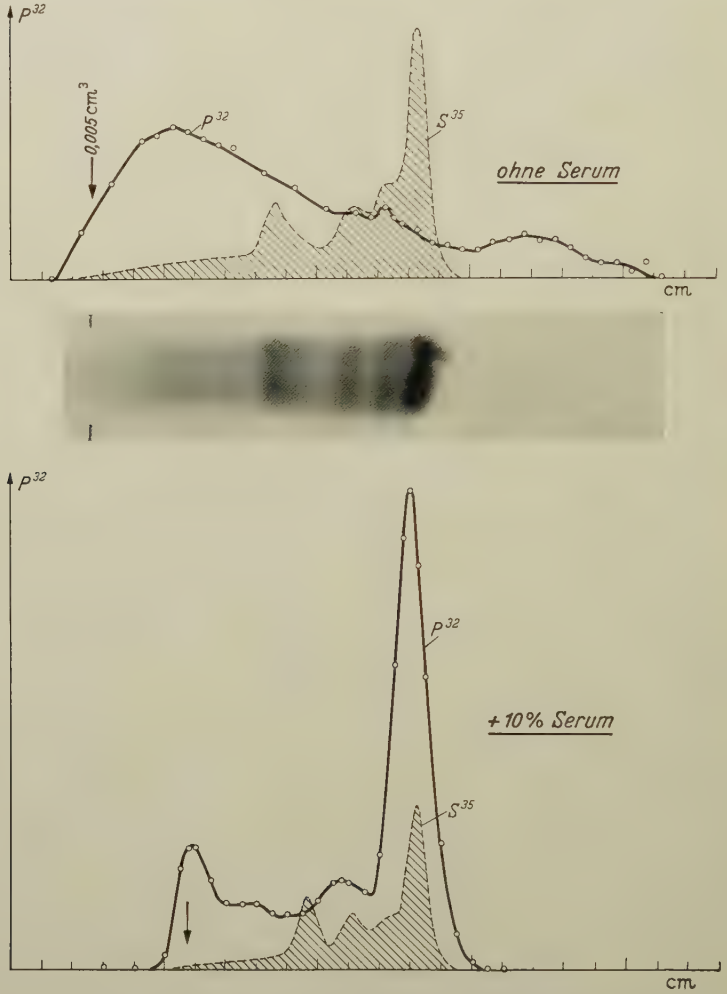


Abb. 2. Verteilung der Phosphatide im Elektrophorese-Diagramm des Serum-Eiweißes. Oben: ohne Serumzusatz zum Puffer. Unten: mit Serumzusatz zum Puffer. (Die schraffierten Flächen entsprechen der Verteilung der S^{35}-Aktivität und die stark ausgezogenen Kurven der P^{32}-Aktivität.)

nicht mit der Lage der Albumin-Fraktion deckt. Es liegt bei etwas kleinerer Wanderungsgeschwindigkeit. Dieser Schlupf ergab sich aber als um so kleiner, je größer der Serumzusatz zum Puffer gewählt wurde.

Danach sollten unter physiologischen Bedingungen die Phosphatide lediglich eine lose Koppelung an die Albumine zeigen.

Um diesen Schluß zu erhärten, wurden Versuche durchgeführt, bei denen dem Puffer an Stelle von Gesamt-Serum einzelne Serum-Eiweiß-Fraktionen, und zwar elektrophoretisch reine Rinder-Albumine bzw. elektrophoretisch reine Rinder-γ-Globuline zugesetzt wurden. Abb. 3 zeigt in überzeugender Weise, daß lediglich die Zugabe von Albuminen einen Einfluß auf die Wanderungsgeschwindigkeit hat.

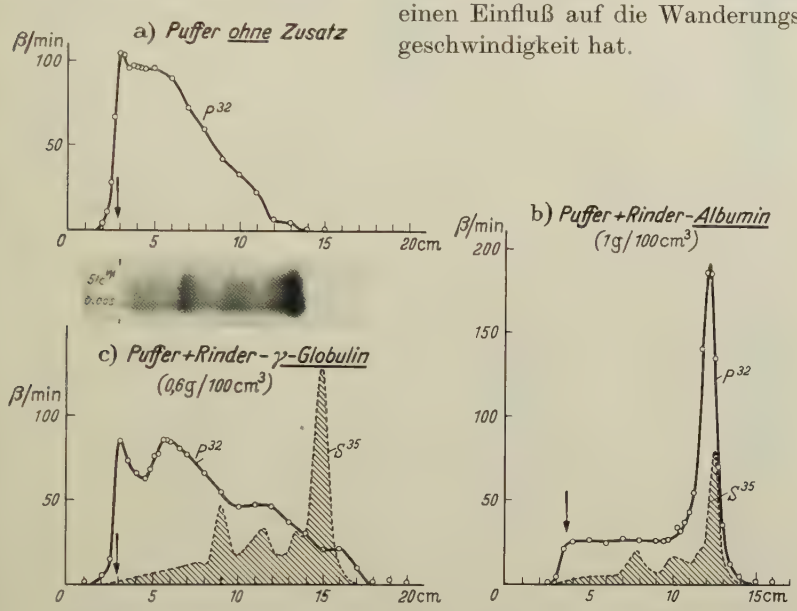


Abb. 3. Verteilung der Phosphatide im Elektrophorese-Diagramm des Serum-Eiweißes. a) Ohne Serumzusatz zum Puffer; b) mit Zusatz von Rinder-Albumin zum Puffer; c) mit Zusatz von Rinder-γ-Globulinen zum Puffer.

Die Versuche zeigen also, daß unter in vivo-Verhältnissen die Phosphatide elektrophoretisch mit den Albuminen wandern. Bemerkenswerterweise ist ihre Wanderungsgeschwindigkeit immer etwas kleiner als diejenige der Albumine. Dieser Schlupf wird um so kleiner, je größer der Serumzusatz im Puffer genommen wird.

Diese Versuche stehen im Widerspruch zu der Annahme einer festen Bindung der Phosphatide an einzelne Serum-Eiweiß-Fraktionen. Sie können nur erklärt werden durch die Annahme einer sehr losen Koppelung an die Albumine. Der beschriebene, von der Serum-Fraktion abhängige Schlupf zwischen der Wanderungsgeschwindigkeit der Phosphatide und den Albuminen zeigt weiterhin, daß auch diese schwache Koppelung zeitlich nicht dauernd vorhanden ist. Man wird sich die Mitnahme der Phosphatide durch die Albumine ähnlich vorzustellen haben wie die Mitnahme von Wassermolekülen durch Ionen bei der Elektrolyse.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß die hier beschriebene Erweiterung des üblichen Elektrophorese-Verfahrens ganz allgemein anwendbar ist. Voraussetzung ist nur, daß sich die zu untersuchende prosthetische Gruppe sowie das Eiweiß derart radioaktiv markieren lassen, daß die beiden Aktivitäten meßtechnisch getrennt werden können.

3. Versuche zur Transportfunktion der Serum-Eiweiß-Fraktionen für organische Jodverbindungen.

Über die Bindung der organischen Jodverbindungen des Serums an einzelne Serum-Eiweiß-Fraktionen war bisher wenig bekannt. Im letzten Jahre sind hierzu zwei Mitteilungen von Gordon, Gross, O'Connor, Pitt-Rivers[6] und Maurer, Reichenbach[7] erschienen. In beiden Untersuchungen werden J^{131}-markierte Seren papierelektrophoretisch getrennt. Wir haben diese Untersuchungen fortgesetzt. Im folgenden sollen einige Beispiele besprochen werden.

Nach Injektion von J^{131} wird dieses von der Schilddrüse rasch aufgenommen. Nach einiger Zeit treten dann im Serum J^{131}-markierte organische Jodverbindungen auf. Zu verschiedenen Zeiten nach J^{131}-Applikation wurde Blut entnommen und das Serum papierelektrophoretisch getrennt. Anschließend wurde die J^{131}-Verteilung längs des Papierstreifens gemessen. Man erhält dann Kurven, wie sie in Abb. 4 wiedergegeben worden sind. Das anorganische Jod bildet ein Maximum (in Abb. 4 nicht eingezeichnet) mit einer Wanderungsgeschwindigkeit, welche mehr als doppelt so groß als diejenige der Albumine ist. Die J^{131}-Aktivität im Bereich der Serum-Eiweiß-Fraktionen (Kurven der Abb. 4) entspricht organischen Jodverbindungen, welche im Organismus durch Biosynthese entstanden sind. Es konnte ausgeschlossen werden, daß es sich bei dieser J^{131}-Aktivität um an Eiweiß adsorbiertes, anorganisches J^{131} oder um Austausch von Jodatomen zwischen inaktiven organischen Jodverbindungen und anorganischem J^{131} handelt.

Abb. 4a gibt die Ergebnisse eines Versuchs mit einem Kaninchen wieder. Zunächst tritt 7 Std nach J^{131}-Gabe ein schwaches Maximum an der Stelle der Albumine auf. Dieses nimmt über 12 Std nach 24 Std stetig um den Faktor rd. 5 zu. Auffällig ist das rasche Wachstum des J^{131}-Maximums an der Stelle der α_1-Globuline. Es ist nach 7 Std noch nicht nachweisbar, überwiegt nach 12 Std und nimmt bis 24 Std nochmals um den Faktor 16 zu. Diese Verhältnisse wurden bei gleicher J^{131}-Dosis wie in Abb. 4a übereinstimmend in mehreren Fällen gefunden.

Die Kurven der Abb. 4b entsprechen gleichfalls einem Kaninchen, nur wurde die 10mal kleinere J^{131}-Dosis gegeben. Abb. 4c stellt einen Fall von Schilddrüsen-Ca dar, bei dem aus therapeutischen Gründen 50 mC J^{131} gegeben worden waren. Die Kurven der Abb. 4b und c sind Beispiele dafür, daß die organischen Jodverbindungen durchaus nicht

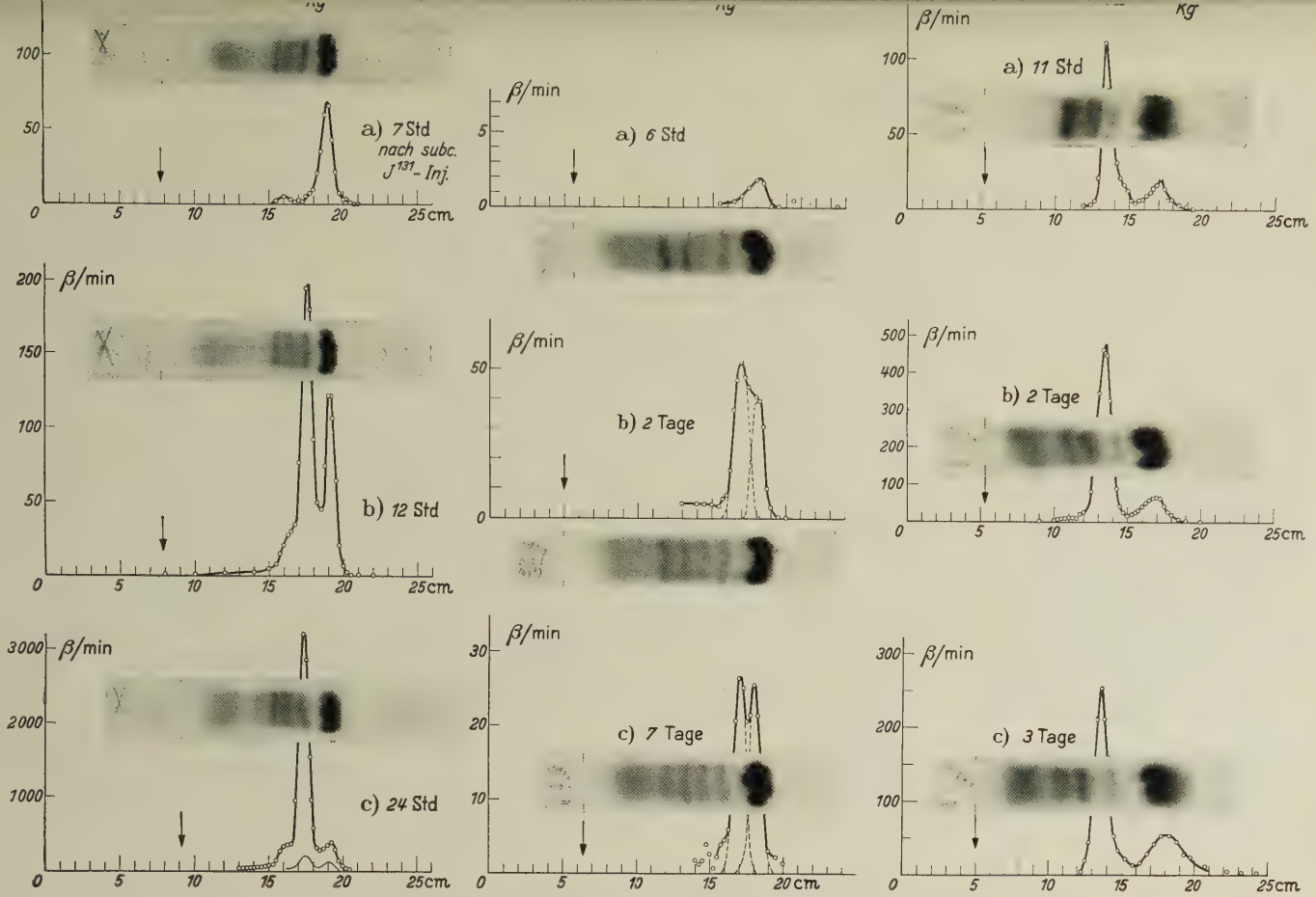


Abb. 4. Verteilung der organischen Jodverbindungen im Elektrophorese-Diagramm des Serum-Eiweißes zu verschiedenen Zeiten nach J^{131}-Applikation.

immer an der Stelle der Albumine und der α_1-Globuline liegen, wie wir auch früher bereits beschrieben haben. Bei einer Reihe von Fällen von Schilddrüsen-Ca und Basedow fanden wir ein Maxima über den Albuminen und ein größeres zwischen den α_1- und α_2-Globulinen, außerdem weitere kleinere. Bei den verwandten J^{131}-Dosen werden in der Schilddrüse große Strahlungs-Äquivalente frei, welche sicher von Einfluß auf die jeweilige Funktion sind.

Mit der beschriebenen Methode erhält man einen Einblick in die Lage der organischen Jodverbindungen im Serum-Eiweiß-Diagramm und ihre Änderung mit der Zeit. Außerdem stellt sie eine sehr schonende Fraktionierung der organischen Jodverbindungen dar.

Literatur.

[1] Schlüssel, H., W. Maurer, A. Hock u. O. Hummel: Biochem. Z. **322**, 226 (1951). — [2] Niklas, A., u. W. Maurer: Naturwiss. **39**, 260 (1952). — [3] Niklas, A., u. W. Maurer: Biochem. Z. **323**, 89 (1952). — [4] Maurer, W., u. K. T. Schild: Klin. Wschr. **29**, 514 (1951). — [5] Maurer, W.: Klin. Wschr. **30**, 323 (1952). — [6] Gordon, A. H., J. Gross, D. O'Connor and R. Pitt-Rivers: Nature (Lond.) **1952**, 19. — [7] Maurer, W., u. L. Reichenbach: Naturwiss. **39**, 261 (1952).

A. Loeser (Münster/Westf.): Lösungsmittel und Lösungsvermittler.

Mit 1 Textabbildung.

Unter dem Begriff „Lösungsmittel" werden im allgemeinen Sprachgebrauch nicht-wäßrige Flüssigkeiten verstanden, die fähig sind, in Wasser nicht oder schlecht lösliche Substanzen zu lösen. Obwohl hier zahlreiche Flüssigkeiten verschiedenster Zusammensetzung, und damit verschiedener Wirkung, anzuführen sind, hat sich der Oberbegriff „Lösungsmittel" auch für die Toxikologie als sinnvoll erwiesen, weil sämtliche Lösungsmittel eine gewisse Toxizität aufweisen, die dem Lösungsmittel Wasser — jedenfalls unter normalen Bedingungen — fehlt. Nach ihrer chemischen Zusammensetzung sind die wichtigsten, auch als organische bezeichneten Lösungsmittel in Tab. 1 geordnet.

Zwei Tatsachen erscheinen hier bemerkenswert: einmal, daß die Zahl der praktisch gebrauchten Halogen-, speziell der Chlorverbindungen des Kohlenstoffes sehr groß ist, und zum andern, daß es innerhalb der Gruppe der Sauerstoffverbindungen sehr vielfältige Kombinationsmöglichkeiten gibt. Die Verbreitung der einzelnen Lösungsmittel zeigt Abb. 1 an verschiedenen Beispielen; gleichzeitig geht aus dem Schaubild hervor, in welchem Maße die Produktion an Lösungsmitteln im Laufe der letzten Jahre zugenommen hat.

Obwohl derartige vergleichende Angaben für das Bundesgebiet nicht gemacht werden können — durch Änderung des Wirtschaftsraumes sind die vorliegenden wirtschaftsstatistischen Angaben unvergleichbar — darf angenommen werden, daß hier die Verhältnisse ähnlich liegen wie in den

Tabelle 1.
Einteilung der organischen Lösungsmittel (nach chemischen Gesichtspunkten, Beispiele).

Kohlenwasserstoffe	Kohlenstoff- Halogenverbindungen	Sauerstoffverbindungen	Stickstoffverbindungen	Schwefelverbindungen
Benzin	Mono- } chlormethan	Alkohole	Nitromethan	Schwefelkohlenstoff
Pentan	Di- } chlormethan	Aldehyde	Nitroäthan	
Hexan	Tetra- } chlormethan	Ketone	Nitropropan	
Heptan		Ester	Nitrobenzol	
Oktan	Mono- } chloräthan	Äther		
	Di- } chloräthan	Säuren		
	Tetra- } bromäthan			
Benzol				
Toluol	Di- } chloräthylen			
Xylol	Tri- } chloräthylen			
Tetralin	Tetra-(Per-) } chloräthylen			
Dekalin	Allylchlorid			
Terpentinöl	Amylchlorid			
	Chlorbenzol			
	Brombenzol			
	Benzylchlorid			
	Benzylbromid			

USA. Jedenfalls erfolgt im vereinigten Wirtschaftsgebiet heute bereits wieder eine beachtliche Produktion (Tab. 2).

Mit einer Zunahme der Herstellung und des Verbrauches von Lösungsmitteln geht Hand in Hand, daß sie in immer verzweigtere Tätigkeitsgebiete eindringen und heute nicht nur in der Industrie, sondern selbst z. B. im Haushalt eine Rolle spielen. Mit dieser weiten Verbreitung ist gleichzeitig gegeben, daß zahlreiche Menschen den keineswegs indifferenten Lösungsmitteln ausgesetzt sind. Die Anfangssymptome der Vergiftung mit Lösungsmitteln sind weitgehend uncharakteristisch (Abgeschlagenheit, Benommenheit, Kopfschmerz, eventuell Fieber) und erlauben keinen sicheren Rückschluß auf die Art des vergiftenden Stoffes. In diesem Zusammenhang sei auch an die Wirkung sogenannter „Schattengifte" erinnert. Tab. 3, in welcher verschiedene Lösungsmittel nach ihrem

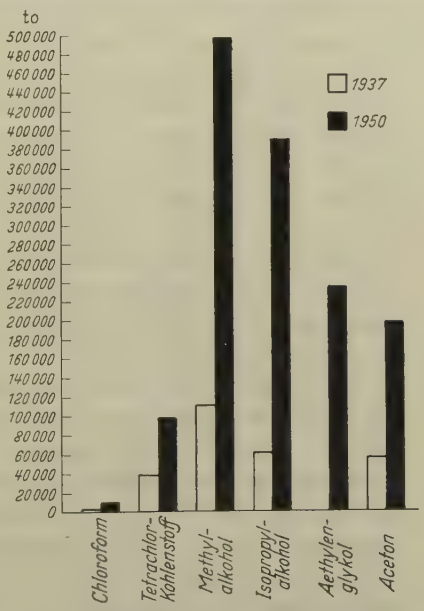


Abb. 1. Produktion einiger Lösungsmittel in den USA für die Jahre 1937 und 1950.

hauptsächlichen Anwendungsbereich in einigen Industriezweigen geordnet sind, soll als ein Hinweis für die Arbeit am Krankenbett dienen. Allerdings werden chemische Bezeichnungen nur selten verwandt, meist gebraucht sind — oft wenig charakteristische — Phantasienamen. Eine Deklarationspflicht ist zu fordern.

Tabelle 2. *Produktion einiger Lösungsmittel aus dem Bundesgebiet (ohne Rheinland-Pfalz, Baden, Württemberg-Hohenzollern) für das Jahr 1951*[1].

Methanol, rein (synthet. u. aus Holzverkohlung) (Gesamtprodukt.)	55 854 t
Butanole (zum Absatz bestimmte Produktion)	20 266 t
Äthyläther (Gesamtproduktion)	1 532 t
Methylacetat (Gesamtproduktion)	6 833 t
Äthylacetat (Gesamtproduktion)	20 927 t
Butylacetat (zum Absatz bestimmte Produktion)	13 955 t
Äthylenglykol (zum Absatz bestimmte Produktion)	11 908 t
Glykoläther (zum Absatz bestimmte Produktion)	4 121 t

[1] Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes.

Die Behandlung muß möglichst schon im Beginn der Vergiftung einsetzen und soll nicht nur die erste Phase, sondern auch den weiteren Ablauf der Vergiftung berücksichtigen. Für die im zweiten Stadium zu erwartenden Organveränderungen mag an die Flurysche Einteilung erinnert sein, wonach die chlorierten Kohlenwasserstoffe gern zu Leberschäden führen, die aromatischen Kohlenwasserstoffe und die Nitroverbindungen Schäden des blutbildenden Markes auslösen, einige Glykole sowie Tetrachlorkohlenstoff Nierenschäden verursachen und Schwefelkohlenstoff, Trichloräthylen und Triorthokresylphosphat Schädigungen der nervösen Apparate zur Folge haben. Es ist selbstverständlich, daß hier das Schematisieren nur insofern Berechtigung hat, als damit ein wichtiger Hinweis für die Therapie gegeben ist: für Vergiftungen mit *Lebergiften* Leberschutztherapie: Invert- oder Traubenzuckerbehandlung, eiweißreiche Diät, Methionin u. a. m., für Vergiftungen mit *Nierengiften* reichliche Flüssigkeitszufuhr (Verdünnen!), Calcium, Aderlaß; bei beginnender Urämie zusätzlich eventuell Peritonealdialyse, künstliche Niere oder Dekapsulation.

Zwei Gruppen von besonders verbreiteten Lösungsmitteln seien im folgenden etwas eingehender dargestellt; die eine gehört zur Klasse der Halogen-, die andere zur Klasse der Sauerstoffverbindungen des Kohlenstoffes. Auf eine Besprechung der übrigen Lösungsmittel glaube ich verzichten zu können, weil über die zusammenfassenden Darstellungen von Lehmann, Flury u. a. Hinausgehendes kaum bekannt geworden ist. Das gilt weitgehend auch für die Halogenverbindungen des Kohlenstoffes, bei deren Abhandlung ich mich daher auf die chlorhaltigen entsprechend ihrer besonderen praktischen Bedeutung beschränken will.

Tabelle 3. *Beispiele für die technische Anwendung organischer Lösungsmittel.*

Industriezweig	Verwendungsart	gebräuchliche Lösungsmittel
Metall- und Maschinen-Industrie	Oberflächenreinigung	
	Entfettung	einfache und chlorierte Kohlenwasserstoffe
	Rostentfernung	Methylcyclohexanol
	Abbeizen von Farbüberzügen	Gemische einfacher und chlorierter Kohlenwasserstoffe
	Schmiermittel Bremsflüssigkeit	} Glykole und Glycerin
Automobil-Industrie	Treibstoffe	einfache Kohlenwasserstoffe
	Gefrierschutzmittel	Äthylenglykol
	Autolackieren	Alkohole, Ester, Ketone
Textil-Industrie	Kunstseide	Schwefelkohlenstoff, Alkohole, Aceton
	Kunstfaser „Perlon“	Dimethylformamid
	Wasserdicht-machen	Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Tetrachloräthan
	„Chem. Reinigung“ Entfetten von Wolle	} Gemische einfacher und chlorierter Kohlenwasserstoffe
	Versteifen	Gemische von Kohlenwasserstoffen, Alkoholen, Estern, Äthern
Leder- und Schuh-Industrie	Entfetten von Leder	Gemische einfacher und chlorierter Kohlenwasserstoffe
	Versteifen von Leder („Kappensteifen“)	fast alle Lösungsmittel
	Reinigungsmittel	Gemische, oft unbekannt
	Schuhcreme	Tetralin, Dekalin, Cyclohexanol, Tetrachlorkohlenstoff
	Klebemittel	Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Schwefelkohlenstoff
	Lederlacke	Alkohole, Ester, Ketone
Anstrich- und Lack-Industrie	Spirituslacke	einfache Alkohole, Ketone, Amylacetat (oft verschnitten mit Benzin oder Benzol)
	Nitrocelluloselacke	Gemische von Äthern, Estern und Ketonen (evtl. verschnitten mit Benzin oder Benzol)
	Acetylcelluloselacke	Ketone, Ester, Äther, Methanol, Nitroparaffine
Gummiwaren-Ind.	Gummilösungen Klebemittel	} Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloräthylene
	Reifenindustrie	
	Kaltvulkanisieren	Benzin, Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Trichloräthylen, Schwefelkohlenstoff
	Klebemittel	Benzol, Tetrachlorkohlenstoff

Tabelle 3. (Fortsetzung).

Industriezweig	Verwendungsart	gebräuchliche Lösungsmittel
Spezielle Verwendungszwecke	Kühlanlagen und Kältemaschinen	Monochlormethan, Monochloräthan und Dichloräthylen
	Feuerlöschmittel	Methylbromid, Äthylbromid, Äthylenbromid, Tetrachloräthylen u. Tetrachlorkohlenstoff

Bei den *Chlorverbindungen* lassen sich zwei große Gruppen unterscheiden, nämlich Chlorverbindungen gesättigter Kohlenwasserstoffe, z. B. solche des Methans und Äthans sowie Chlorverbindungen des Äthylens, d. h. eines ungesättigten Kohlenwasserstoffes. Alle diese Substitutionsprodukte sind verhältnismäßig leicht zugänglich und stellen, soweit sie flüssig sind, Lösungsmittel von hervorragender Lösungsfähigkeit dar.

Wie viele andere Lösungsmittel so wirken auch die chlorierten Kohlenwasserstoffe narkotisch. Darüber hinaus besitzen sie eine mehr oder minder ausgeprägte örtliche Reizwirkung. Borbély bezeichnet diese Wirkungen als unspezifisch und stellt ihnen den Einfluß auf Leber und Nervensystem als spezifische Wirkungen gegenüber. Im Rahmen dieser Betrachtungsweise erscheint die alte, in der Zwischenzeit wiederholt bestätigte Feststellung von Lehmann, daß die narkotische und die toxische Wirkung der chlorierten aliphatischen Kohlenwasserstoffe nicht unbedingt parallel gehen, ohne weiteres verständlich.

Abgesehen von der chemischen Struktur, scheint für die Stärke der narkotischen Erscheinungen unter anderem die Leichtigkeit von Bedeutung zu sein, mit welcher die betreffende Chlorverbindung ausgeatmet oder auf andere Weise unschädlich gemacht wird. Erfolgt die Ausscheidung nämlich rasch und relativ vollständig, so kann selbst eine recht tiefe Narkose noch überlebt werden. Dies gilt namentlich für die einfach chlorierten Verbindungen, bei denen die unspezifische Wirkung ganz im Vordergrund steht. Eine Ausnahme macht das Anfangsglied der Gruppe „halogenierte Kohlenwasserstoffe", Monochlormethan, welches neben einer nur ganz geringen unspezifischen eine ausgeprägte spezifische Wirkung besitzt. Man hat daran gedacht, daß für diesen Effekt und damit die Sonderstellung des Monochlormethans ein Abbauprodukt — etwa der Methylalkohol — verantwortlich zu machen wäre. Mit Einführung mehrerer Chloratome wird im allgemeinen die spezifische Wirkung — neben der unspezifischen — zunehmend bedeutungsvoller; vielleicht hängt diese Erscheinung mit der besseren Fettlöslichkeit dieser Verbindungen zusammen.

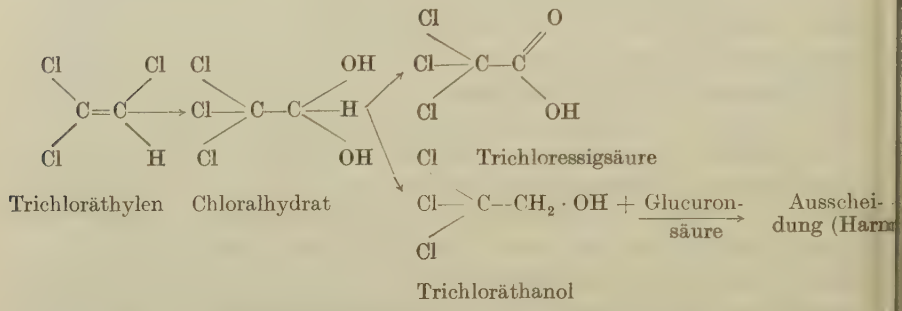
Obwohl es schwierig ist, für den Grad der Leberschädigung einen brauchbaren Maßstab zu bekommen, so läßt sich mit einer gewissen

Berechtigung dennoch sagen, daß ihre Stärke in erster Linie durch die Zahl der Chloratome bestimmt wird. Ähnliches gilt übrigens auch für das Auftreten der sogenannten Chlorakne. Daß für die hepatotoxische Wirkung nicht *nur* die Zahl der Chloratome eine Rolle spielt, zeigt das Beispiel Tri- und Tetrachloräthylen, Verbindungen, die wesentlich weniger leberschädigend sind als man nach der Zahl ihrer Chloratome erwarten sollte. Worin allerdings der Leberschaden besteht und ob er durch die Chlorverbindung selbst oder durch ihre Abbauprodukte hervorgerufen wird, ist noch weitgehend ungeklärt. Für Tetrachlorkohlenstoff ließ sich zeigen, daß er wohl die Tätigkeit von Enzymen stört mit der Folge, daß die für Methylierungs- und Kopplungsreaktionen notwendige, aus der Adenosintriphosphorsäure stammende Energie nicht ausgenutzt werden kann.

Der Versuch, auch die sonstigen Wirkungen der chlorierten Kohlenwasserstoffe zu bestimmten Eigenschaften des Moleküls in Beziehung zu setzen, hat bisher zu keinem vollbefriedigenden Ergebnis geführt. Vielleicht sind die hämolytischen und auch die antibakteriellen Wirkungen, welche vielen der hierher gehörigen Verbindungen zukommen, bis zum gewissen Grade abhängig von der Wasserlöslichkeit der betreffenden Chlorverbindung; vielleicht ist für den schädigenden Effekt auf den Herzmuskel die Geschwindigkeit, mit welcher der Gehalt des Blutes an chlorierten Kohlenwasserstoffen ansteigt, von Bedeutung. Hinsichtlich der örtlichen Reizwirkung hat sich dagegen bis heute noch kein übergeordneter Gesichtspunkt ergeben. Hier bleibt auch zu bedenken, daß sich manche der chlorierten Kohlenwasserstoffe — für das Trichloräthylen ist es z. B. erwiesen — unter Einwirkung bestimmter Faktoren, wie Licht, Wärme, Alkali u. a. m. zersetzen, und daß die so entstehenden Produkte, unter denen das Phosgen besondere Beachtung verdient, eine Reizwirkung auslösen, welche der Ausgangsverbindung nicht oder in nur geringem Maße eigen ist. Derartige Dinge muß die gewerbehygienische Betriebsüberwachung besonders berücksichtigen und bei Auswertung ihrer Beobachtungen bedenken.

Über das Schicksal der Chlorkohlenwasserstoffe im Organismus kann ich mich kurz fassen, denn allzu viel Gesichertes ist noch nicht bekannt. Die meisten werden rasch und leicht resorbiert, aber auch leicht — und zwar vorwiegend mit der Ausatmungsluft — wieder ausgeschieden. So hat man in Fortführung älterer Untersuchungen bei Verwendung von radioaktiv gemachtem Tetrachlorkohlenstoff nachweisen können, daß auf diesem Weg über 50% den Organismus verlassen. Der Rest wird im Körper — unter gewisser Bevorzugung des Fett- und Lebergewebes — rasch verteilt und auf größtenteils unbekannten Wegen abgebaut. Interessant ist dabei, daß von dem C^{14} des Tetrachlorkohlenstoffes ungefähr 10% im Harn in Form *bekannter* Ausscheidungsprodukte wie Harnstoff und Carbonate wiedergefunden wurden, während etwa 40% in einer nicht

genauer bekannten alkohollöslichen, aber ätherunlöslichen Fraktion enthalten waren. Schließlich darf ich hier noch anführen, daß auch unsere Kenntnisse über den Abbau des Trichloräthylens im Laufe der letzten Jahre erweitert worden sind. Man hat nämlich festgestellt, daß als Ausscheidungsprodukte des Trichloräthylens im Harn Trichloräthanol — gekoppelt an Glucuronsäure — und Trichloressigsäure auftreten. Der Abbau soll über die Zwischenstufe Chloralhydrat erfolgen:



Wenn auch viele Fragen noch zu klären bleiben, so geht aus dem bisher Gesagten eines eindeutig hervor, nämlich, daß die chlorhaltigen Lösungsmittel recht differente Stoffe sind; nicht nur zersetzt, sondern auch an sich besitzen sie sowohl in Form ihrer Dämpfe als auch im flüssigen Zustande eine erhebliche Giftigkeit. Daraus ergibt sich, daß die Chlorverbindungen als Lösungsmittel für Arzneistoffe praktisch nur beschränkte Verwendung finden können.

Als zweite Gruppe von Lösungsmitteln, auf die ich hier näher eingehen will, nannte ich vorhin die der *Sauerstoffverbindungen des Kohlenstoffes*.

Die in Betracht kommenden Substanzen sind in Tab. 4 zusammengestellt. Ich muß aber darauf hinweisen, daß es sich auch in diesem Falle nur darum handeln kann, Ihnen einige Beispiele zu geben, denn es ist völlig ausgeschlossen, jeden der möglichen Äther, Ester, Ätherester usw., ja, auch nur jede der praktisch gebrauchten Verbindungen mit Namen zu nennen oder gar zu besprechen.

Ganz kurz fassen darf ich mich bei den *einwertigen Alkoholen*. Ich verweise hier auf den Vortrag von Herrn Keeser, der anschließend über den Methylalkohol sprechen wird, und auf seine 1951 erfolgte Stellungnahme zum langjährigen Streitpunkt Isopropylalkohol. Die alte Frage, ob Isopropylalkohol für gewisse Arzneizubereitungen verwendet werden kann, oder aber, ob seine Giftigkeit eine derartige Anwendung verbietet, wurde von Keeser in Übereinstimmung mit der Ansicht Sollmanns dahingehend beantwortet, daß gegen eine äußerliche Anwendung nichts einzuwenden sei, daß aber für den innerlichen Gebrauch mancherlei Bedenken bestünden. Diese Stellungnahme gründet sich weitgehend auf

Tabelle 4. *Beispiele für Kombinationsmöglichkeiten innerhalb der Gruppe „Sauerstoffverbindungen des Kohlenstoffes".*

Alkohole: 1-wertige:	Methylalkohol Äthylalkohol Propylalkohol Isopropylalkohol Allylalkohol Butylalkohol Amylalkohol Benzylalkohol Cyclohexanol	2-wertige: Äthylenglykol 1,2-Propylenglykol 1,3-Butylenglykol 1,4-Butylenglykol	3-wertige: Glycerin 1,2,4-Butantriol
Äther: vornehmlich	Methyl- Äthyl- Propyl- Butyl-	äther von 1-, 2- oder 3-wertigen Alkoholen bzw. Äther-Alkoholen	
	Kondensationsprodukte von Äthylenglykol → Di-, Tri-, Tetra- .... Polyäthylenglykole		
	Kondensationsprodukte von Propylenglykol → Di-, Tripropylenglykol		
Ester: vornehmlich	Acetate Formiate Butyrate Lactate		
	Laurate Oleate Adipinate Phthalate	von 1-, 2- oder 3-wertigen Alkoholen bzw. Äther-Alkoholen	Weichmacher!
Säuren:	Ameisensäure Essigsäure Buttersäure Milchsäure	Phthalsäure Adipinsäure Ölsäure Laurinsäure	

Bestimmungen der akuten Toxizität des Isopropylalkohols, die etwa doppelt so groß ist wie die des Äthylalkohols. Ähnliche Verhältnisse wurden von manchen Autoren auch bei wiederholter Verabfolgung von Isopropylalkohol beobachtet. Andererseits fanden aber Morris u. Lightbody bei Kaninchen — und eigene Versuche bei Ratten können im gleichen Sinne gedeutet werden —, daß eine wesentliche Gefährdung beim Isopropylalkohol im Gegensatz zu Äthylalkohol in seiner sekundären Giftigkeit besteht, d. h. in einer erst bei längerer Beobachtung deutlich werdenden Giftwirkung (im 2. Stadium). Dementsprechend finden sich auch unterschiedliche Abbauprodukte, bei Äthylalkohol: Acetaldehyd, bei Isopropylalkohol: Acetessigsäure und Aceton. Wie aber der Wirkungsweg auch sein mag, wichtig erscheint mir, daß dem Isopropylalkohol eine wesentliche Spättoxizität zukommt oder zumindest unter bestimmten Bedingungen zukommen kann.

Von den *zweiwertigen Alkoholen* sind solche bekannt, die zweifellos recht giftig sind, d. h. schon in kleinen Mengen Schäden hervorrufen, z. B. 1,4-Butandiol, und andererseits solche, die als weitgehend ungiftig gelten können, wie 1,2-Propylenglykol und 1,3-Butylenglykol; dazwischen wären die übrigen Glykole einzuordnen. Die bisher bekannten dreiwertigen Alkohole scheinen relativ ungiftig zu sein. Vom toxikologischen Standpunkt aus läßt sich also die Stoffklasse der mehrwertigen Alkohole offenbar nicht über einen Kamm scheren. Im übrigen gilt das vorhin bei den chlorierten Kohlenwasserstoffen Gesagte abgewandelt auch hier: jedem dieser sauerstoffhaltigen Lösungsmittel ist eine unspezifische, narkotische Wirkung eigen und eine spezifische, organotrope Wirkung, welche in Nieren- oder auch Leberschäden besteht. Ganz allgemein scheint richtig zu sein, daß die primär-sekundären Alkohole nur wenig giftig sind, während diprimäre und disekundäre eine höhere Toxizität erkennen lassen. Solange wir über die Bedeutung der Qualität der Hydroxylgruppen und ihrer Stellung zueinander für die Wirkung des Alkohols, etwa durch Besonderheiten des Abbaues, aber nicht mehr wissen als heute, ist mit dieser Formulierung nicht viel ausgesagt. Bei den einzelnen mehrwertigen Alkoholen kommt es in erster Linie auf die Wirkungsbedingungen und auf ihre speziellen Eigenschaften an, ob der eine oder der andere Effekt mehr im Vordergrund des Vergiftungsbildes steht. Dabei muß allerdings hervorgehoben werden, daß die Unterschiede der Wirkungsstärke zwischen den einzelnen Gliedern der in die Klasse der mehrwertigen Alkohole einzuordnenden Lösungsmittel aber so beträchtlich sind, daß eine gemeinsame Besprechung unzweckmäßig erscheint; durch ein solches Vorgehen würde nämlich allzu leicht der Umstand verschleiert werden, daß bei den einzelnen Vertretern dieser Stoffklasse sehr unterschiedliche, zum Teil kleine, zum Teil enorme Dosen, ich möchte beinahe sagen „Eimer" nötig sind, um erkennbare Schäden der parenchymatösen Organe hervorzurufen.

Das Anfangsglied der zweiwertigen Alkohole, *Äthylenglykol oder Äthandiol*, ist wegen seiner ausgezeichneten Lösungseigenschaften ein ungewöhnlich verbreitetes Lösungsmittel, dessen weiterer Vorteil darin liegt, daß es recht schwer flüchtig ist und bisher zu gewerblichen Vergiftungen kaum Anlaß gegeben hat[1]. Nahezu gesättigte Dämpfe mit 300 mg/1000 Liter rufen bei Ratten keine wesentlichen Schäden hervor. Auch die toxische Dosis ist für Äthylenglykol recht hoch, d. h. seine akute Giftigkeit ist gering. Andererseits kann bei einmaliger Verabfolgung von verhältnismäßig *großen* Mengen Äthylenglykol noch nach Tagen relativ normalen Verhaltens der Tiere eine Anurie mit Todesfolge auftreten. Ein Nierenschaden wurde auch verantwortlich gemacht für

[1] Eine Besprechung des Nitroglykols wurde ebenso wie die des Nitroglycerins als nicht hierher gehörig bewußt unterlassen.

die erhöhte Sterblichkeit von Ratten, denen Trinkwasser mit einem Gehalt von 1—10% Äthylenglykol oder auch Futter mit Äthylenglykolzusatz angeboten wurde. Der immer wieder bei der Erklärung des Nierenschadens angeführten Oxalsäure, einem Abbau- und Ausscheidungsprodukt des Äthylenglykols, kommt ursächlich dabei sicher keine wesentliche Bedeutung zu; die Menge, in welcher Oxalsäure entsteht, ist viel zu klein, um eine derartige Vorstellung zu rechtfertigen. Hinzu kommt, daß manche, ebenfalls nierenschädigenden Glykole gar nicht zu Oxalsäure abgebaut werden können, womit eine derartige Erklärung völlig hinfällig wird. Von der Haut aus soll Äthylenglykol — zumindest bei Kaninchen — neben einer geringen örtlichen Reizwirkung ebenfalls Nierenschäden hervorrufen können; solche Nierenschäden ließen sich nachweisen durch Harnstoffanstieg im Blut und Verzögerung der Farbstoffausscheidung, auch ohne daß später im histologischen Bild der entnommenen Niere stets Veränderungen zu beobachten gewesen wären (die verzögerte Farbstoffausscheidung braucht allerdings nicht unbedingt für einen Nierenschaden zu sprechen).

Zusammengefaßt läßt sich also sagen: die Giftigkeit von Äthylenglykol ist nicht sehr beträchtlich, für die damit umgehenden Arbeiter besteht wohl keinerlei Gefahr. So sind die Bestrebungen doppelt verständlich, das leicht zugängliche Äthylenglykol vielseitig einzusetzen. Gegen einen großtechnischen Einsatz von Äthylenglykol als selektives Lösungsmittel bei der Reinigung von Erdöl zur Trennung von Aromaten und Paraffinen, gegen einen Gebrauch als Trocknungsmittel für Naturgas, als Grundstoff für die Herstellung von Elektrolyten für Elektrolytkondensatoren, ist nichts einzuwenden. Auch in der kosmetischen Industrie dürfte eine Verwendung von Äthylenglykol ohne wesentliche Gefahr möglich sein, wobei allerdings zwei Dinge ein Augenmerk verlangen: einmal das in diesem Industriezweig so beliebte „Mischen" und zum andern die großflächige Anwendung wie sie etwa bei Massageölen üblich ist. In der pharmazeutischen Industrie halte ich eine Verwendung von Äthylenglykol für nicht besonders bedenklich, möchte aber dem indifferenten 1,2-Propylenglykol als Lösungsmittel für Arzneistoffe vornehmlich unter dem Eindruck der Arbeit von Lepkovsky den Vorzug geben. In erhöhtem Maß gilt das für eine Verwendung von Äthylenglykol bei der Bereitung von Nahrungs- oder Genußmitteln, z. B. von Getränken; hier lehne ich den unkontrollierten Gebrauch von Äthylenglykol ab.

Das zweite Glied dieser homologen Reihe, das *1,2-Propylenglykol oder 1,2-Propandiol*, ist nach allen bisher vorliegenden Untersuchungen *sehr* weitgehend unschädlich. Das gilt sowohl für die Dämpfe als auch für oral, subcutan, intramuskulär oder intravenös beigebrachtes Propylenglykol. Oral verabfolgt haben selbst Mengen bis zu 10 cm^3/kg sicher keine schädigenden Wirkungen; im Gegenteil, wie chronische Fütterungsversuche

ergaben, kann Propylenglykol ebenso wie Glycerin glykogenbildend wirken und das Körpergewicht von Ratten bei zusätzlicher Verabfolgung zur Kost sogar über die Norm ansteigen lassen. Auch mit Fettsäuren verestert und in dieser Form als Nahrungsfett verwendet, erwies sich Propylenglykol in den Versuchen von Lepkovsky als weitgehend indifferent. Ähnliches gilt auch, wenn Propylenglykol in Dampfform zur Einwirkung gelangt oder als solches auf die Haut aufgetragen wird. Hierbei sind zwar geringe örtliche Reizwirkungen beobachtet worden, sie scheinen aber nicht stärker als bei Anwendung von Glycerin zu sein. Kurzum: Propylenglykol ist im akuten Versuch wenig giftig, von ihm sind *mindestens* doppelt so große Mengen wie von Äthylenglykol nötig, um Vergiftungssymptome auszulösen, es hat keine Spättoxizität, es ist bei wiederholter Zufuhr weitgehend unschädlich. Allerdings ist die intravenöse Anwendung *unverdünnter* Lösungen wegen der Gefahr einer Hämoglobinurie ebenso wie für die übrigen Glykole nicht zu empfehlen. Ob die geringe Toxizität von Propylenglykol damit zusammenhängt, daß es rasch und zum Teil an Glucuronsäure gekoppelt ausgeschieden wird, oder damit, daß Propylenglykol über Brenztraubensäure leicht abgebaut werden kann, ist nicht sicher zu entscheiden. Vielleicht spielen all diese Dinge eine Rolle. Grundsätzlich kann zwar auch das 1,2-Propylenglykol zu Nieren- oder Leberschäden führen, aber dazu sind *enorme* Dosen nötig, und auch dann sind die Veränderungen nicht sehr eindrucksvoll.

Anders liegen die Verhältnisse bei dem wenig untersuchten *1,3-Propylenglykol oder 1,3-Propandiol.* Nach den Angaben von Scholz dürfte es etwa 3 mal, nach van Winkle etwa 2 mal giftiger sein als 1,2-Propylenglykol; es hat schon wegen der Schwierigkeit der Reindarstellung keine praktische Bedeutung.

Eine ähnliche Beurteilung wie dem 1,2-Propylenglykol kommt auch dem *1,3-Butylenglykol oder 1,3-Butandiol* zu, das im Laufe der letzten Jahre von mir und meinen Mitarbeitern Bornmann, Fischer, Kopf, Meyer und Stürmer genauer untersucht wurde. Soweit sich bisher sagen läßt, kann dieser primär-sekundäre Alkohol hinsichtlich seiner akuten und chronischen Toxizität den als unschädlich geltenden, ebenfalls primär-sekundären Alkoholen 1,2-Propylenglykol und Glycerin an die Seite gestellt werden. Daß der Reinheitsgrad hierbei wie auch sonst von Bedeutung ist, versteht sich eigentlich von selbst und geht auch aus Tab. 5 hervor.

Tabelle 5. *Toxizität von 1,3-Butandiol verschiedenen Reinheitsgrades (cm³/kg/24 Std).*

Reinheitsstufe	Maus		Ratte	
	per os	subcutan	per os	subcutan
1,3-Butandiol, technisch	19,16	15,80	28,38	19,42
1,3-Butandiol, gereinigt	22,52	—	—	—
1,3-Butandiol, Reinprodukt	23,31	16,51	29,42	20,06

Nach L. Fischer, R. Kopf, A. Loeser, G. Meyer: Z. exper. Med. **115**, 26 (1949).

Im Gegensatz zum 1,3-Butandiol ist der diprimäre Alkohol mit 4 C-Atomen, *1,4-Butylenglykol (= 1,4-Butandiol)*, *hoch*giftig, und der schwer zugängliche disekundäre Alkohol *2,3-Butylenglykol (= 2,3-Butandiol)*, der bei der alkoholischen Gärung anfällt, toxisch; ins einzelne gehende Untersuchungen fehlen allerdings.

Bevor ich auf gewisse Derivate der zweiwertigen Alkohole zu sprechen komme, möchte ich hier noch ganz kurz zwei *dreiwertige Alkohole* erwähnen, nämlich Glycerin und 1, 2, 4-Butantriol. Die praktische Ungiftigkeit des *Glycerins*, das Fehlen einer sekundären Toxizität, seine Eigenschaft, nach parenteraler Zufuhr zur Hämoglobinurie zu führen, seine geringe örtliche Reizwirkung, das alles sind alt bekannte Tatsachen. Grundsätzlich ähnlich dürfte auch der dreiwertige Alkohol, der sich vom Butan herleitet, das in meinem Institut näher untersuchte *1, 2, 4-Butantriol*, einzuschätzen sein. Über seinen Abbau wissen wir allerdings noch nichts Genaues.

Von den Derivaten der mehrwertigen Alkohole sollen die *Ester und Äther der zweiwertigen Alkohole*, besonders die des Äthylenglykols als praktisch bedeutungsvolle Verbindungen herausgestellt werden.

Die einfachen *Ester*, deren Hauptvertreter die essigsauren Glykole darstellen, sind nach den vorliegenden Befunden im allgemeinen nicht wesentlich giftiger als die Ausgangsverbindung. Veresterung beider Alkoholgruppen scheint dagegen die Giftigkeit zu steigern. Veresterung mit Ameisensäure beeinflußt, wie aus spärlichen Mitteilungen hervorgeht, sowohl die Giftigkeit als auch die örtliche Reizwirkung offenbar stärker. Bei den Äther-Estern der Glykole werden die Verhältnisse so unübersichtlich, daß ich darauf verzichten muß, hier jede einzelne der hinsichtlich Toxizität wie auch allgemeiner Wirkungen sehr unterschiedlichen Verbindungen anzuführen.

Unter den *Äthern* der mehrwertigen Alkohole sind die des Äthylenglykols wegen ihrer Bedeutung als Lösungsmittel besonders hervorzuheben. Mit einer gewissen Berechtigung läßt sich sagen, daß die Äther der einfachen Glykole im Gegensatz zu den Estern giftiger sind als die Glykole selbst. Diese größere Giftigkeit der Äther gibt sich auch dadurch zu erkennen, daß ihre Anwesenheit in Gemischen mit ungiftigen Glykolen eine Steigerung der Toxizität bedeutet (Bornmann). Außerdem sind die Äther leichter flüchtig, so daß der Umgang mit ihnen nicht ohne Gefahren ist. Bei erreichter Sättigung in der Luft führen die Äther zu schwersten toxischen Erscheinungen. Um einen Anhalt für die gegebene Gefährdung zu gewinnen, hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die Sättigungskonzentration in Beziehung zur letalen Konzentration zu setzen. Der Quotient $\frac{\text{Sättigungskonzentration}}{\text{letale Konzentration}}$ kann als Gefährdungsindex bezeichnet werden. Ist die Indexziffer hoch, so läßt sich eine gesundheitliche

Schädigung relativ schwierig vermeiden, ist sie dagegen niedrig, so ist umgekehrt eine ausreichende Vorsorge einfach. Die Gefährdung nimmt in der Reihenfolge Methyl-, Äthyl-, Isopropyl-, Propyl-, Butyläther des Äthylenglykols[1] ab. Daß dem Methyläther besondere Aufmerksamkeit zu schenken ist, geht auch aus Beobachtungen von Greenburg u. Mitarb. hervor, die in sehr sorgfältigen Untersuchungen feststellten, daß von Arbeitern, die mit diesem Lösungsmittel in einer Kragenfabrik zu tun hatten und konzentrierten Dämpfen ausgesetzt waren, ein Teil erkrankte, ein Teil aber auch nur nicht beachtete, diskrete neurologische und hämatologische Veränderungen aufwies.

Als Lösungsmittel für innerlich einzunehmende Arzneizubereitungen kommen die genannten Äther ebensowenig in Betracht wie die Äther des Diäthylenglykols, auf das ich später noch eingehen werde. Sein Monoäthyläther[1] ist ebenso wie der Monomethyläther, verglichen mit der Stammverbindung, im akuten Versuch recht toxisch; bei wiederholter Zufuhr soll er nach Untersuchungen von Hanzlik und seinen Mitarb. den Organismus hingegen weniger schädigen als das Diäthylenglykol. Von der Haut aus werden wirksame Mengen des Äthers resorbiert; bei Anwendung hoher Dosen soll es bei Kaninchen dabei auch zu morphologisch faßbaren Nierenschäden kommen können. In den Vereinigten Staaten, wo der Äthyläther des Diglykols in der kosmetischen und Nahrungsmittelindustrie vielfach verwendet wird, ist m. W. bisher aber von Vergiftungen nichts bekannt geworden.

Den Äthern des Propylenglykols und des Dipropylenglykols kommt offenbar noch keine größere Bedeutung zu, ich möchte sie hier nur erwähnen und betonen, daß auch in diesem Falle die Äther giftiger sind als die Stammverbindung Propylenglykol bzw. Dipropylenglykol.

Lassen Sie mich kurz zusammenfassen: von den Äthern und Estern der zweiwertigen Alkohole — die der dreiwertigen sind zur Zeit technisch von nicht so wesentlicher Bedeutung — haben die Äther im allgemeinen eine deutlich höhere Giftigkeit als das Stammglykol. Daß diese höhere Giftigkeit mit dem Alkohol-Äther-Charakter der Verbindungen zusammenhängt, ist zwar nicht bewiesen, stimmt aber recht gut mit den praktischen experimentellen Erfahrungen überein. Mehrfache Äther sind im allgemeinen giftiger als einfache. Im Gegensatz zu den Äthern nähern sich die Ester hinsichtlich ihrer Toxizität der Grundverbindung.

Von entscheidendem Einfluß auf die weitere Entwicklung war nun die Entdeckung, daß die Verätherung nur dann eine Steigerung der Giftigkeit bedeutet, wenn dazu einwertige Alkohole benutzt werden. Wird der mehrwertige Alkohol dagegen mit einem mehrwertigen Alkohol veräthert, so entstehen Verbindungen, die für den Organismus mit

[1] Im amerikanischen Schrifttum wird der Äthyläther des Äthylenglykols auch als „Cellosolve", der des Diäthylenglykols als „Carbitol" bezeichnet.

zunehmender Molekülgröße immer besser verträglich sind und ein gutes Lösungsvermögen besitzen. Am längsten bekannt sind Di-, Tri- und Tetraäthylenglykol, Verbindungen, welche man auch als Anfangsglieder der Gruppe der *Polyglykole* auffassen kann. Während es sich bei den genannten Gliedern dieser Gruppe noch um chemisch eindeutige Verbindungen handelt, liegen die höheren Glieder im allgemeinen als Mischungen vor, deren mittleres Molekulargewicht in etwa diese Stoffe grob charakterisiert. Die Polyglykole 200—500 sind flüssig, 600—900 halbflüssig, ab 1000 sind sie nahezu oder völlig fest. Sämtliche Polyäthylenglykole sind gut wasserlöslich im Gegensatz zu den Polypropylenglykolen, deren Wasserlöslichkeit mit steigendem Molekulargewicht abnimmt.

Während dem ersten Glied dieser homologen Reihe, dem Diäthylenglykol, noch eine Reihe „Schönheitsfehler" anhaften sollen, z. B. eine bei wiederholter Zufuhr oder bei epidermaler Applikation beobachtete Schädigung von Leber und Niere, sind die folgenden Glieder offenbar weitgehend indifferent. Die Geschwindigkeit, mit der die höheren Polyglykole resorbiert werden, scheint mit steigender Zahl der ätherartig gebundenen Äthylenglykol-Moleküle zu sinken. Dementsprechend nimmt auch die Giftwirkung ab. Das gilt nicht nur für die akute, sondern auch für die chronische Toxizität. Ob allerdings die Vorstellung, daß die Toxizität mit wachsender Kettenlänge abnimmt, auch im Bereich der festen Polyäthylenglykole ohne Einschränkungen zutrifft, bedarf noch weiterer Untersuchungen.

Über das Schicksal der Polyäthylenglykole im Organismus wissen wir nur so viel, daß sie bis zum Molekulargewicht 400 recht gut resorbiert und von den Zellen aufgenommen werden. Verbindungen mit höherem Molekulargewicht sollen sich dagegen nur in den extracellulären Flüssigkeiten finden. Je größer das Molekül ist, um so vollständiger dürfte die Ausscheidung der unveränderten Substanz sein, wohl weil keine Rückresorption in den Tubuli erfolgen kann. Was die Möglichkeit eines Abbaues der Polyglykole anbelangt, so ist zu sagen, daß eine solche Möglichkeit wohl besteht; mit einiger Sicherheit führt der Abbau aber nicht zum Äthylenglykol.

In diesem Zusammenhange möchte ich noch nachtragen, daß die Polyglykole, wie übrigens früher auch schon verschiedene andere Glykole, zur Raumdesinfektion Verwendung finden.

Bevor ich das Gebiet der Polyglykole verlasse, sollen noch einige Verbindungen erwähnt werden, bei denen der Versuch gemacht ist, durch Einführung von Gruppen, welche das Lösungsvermögen für Fette erhöhen, der Gesamtverbindung sowohl hydrophile als auch lipophile Eigenschaften zu geben. Hier wären namentlich die sogenannten Tweene 20—80 und die von Schöller beschriebenen Alkylpolyäthylenoxydderivate zu erwähnen. Bei den Tweenen hat man das Ziel „doppeltes

Lösungsvermögen" zu erreichen versucht durch Anlagerung von Polyglykolen und Laurinsäure bzw. Palmitin —, Stearin- oder Ölsäure an ein Hexit (Sorbit oder Mannit), bei den von Schöller beschriebenen Verbindungen durch Koppelung eines fettlösenden Alkyls mit dem wasserlöslichen Polyäthylenglykol. Die so gewonnenen Verbindungen können als ausgezeichnete Lösungsmittel oder aber als Lösungs*vermittler* dienen. Es läßt sich nämlich nicht entscheiden,ob sie der einen oder der anderen Gruppe zuzurechnen sind. Über die Pharmakologie dieser Verbindungen liegen Arbeiten von Krantz u. Mitarb. bzw. von Soehring u. Mitarb. vor, die günstig klingen. Im übrigen ist unser Wissen noch sehr lückenhaft und besteht aus einigen — zum Teil sehr interessanten — Einzelheiten, z. B. daß die Antihistaminika bei gleichzeitiger Zufuhr von Tween 20 auch dem Histamin der Magenwand, das sie sonst nicht zu hemmen vermögen, entgegenwirken, daß es gegen die Tweene eine Allergie bei Hunden gibt, daß Tween 80 die cholesterolytische Fähigkeit des Blutes erhöht und daß die Schöllerschen Verbindungen lokalanästhetische Wirkungen aufweisen.

Mit diesen an der Grenze von Lösungsmitteln zu Lösungsvermittlern liegenden Stoffen möchte ich die Besprechung der eigentlichen Lösungsmittel abschließen und übergehen auf die *Lösungsvermittler*.

Die Tatsache der Lösungsvermittlung ist schon lange bekannt. Ich erinnere nur an das unterschiedliche Lösungsvermögen von Serum und von Wasser. Als Beispiel sei angeführt, daß die Löslichkeit von Äther in Wasser bei 15° 8%, in Serum bei gleicher Temperatur hingegen 11% beträgt. Auch der in Wasser unlösliche polycyclische Kohlenwasserstoff Benzpyren kann nach den Untersuchungen von Brock, Druckrey und Hamperl vom Serum in geringem Umfange gelöst werden.

Als Erklärung für das Lösungsvermögen des Serums hat man natürlich in erster Linie an die verschiedenen Bestandteile des Blutes gedacht. Sieht man dabei von dem geringen Lösungseffekt der Eiweißkörper ab — ein solcher wurde von Brock für Benzpyren erwiesen —, so scheint die größere Bedeutung dem Gehalt des Blutes an Fetten und Lipoiden zuzukommen. Auch hierfür geben die schon erwähnten Untersuchungen von Brock, Druckrey und Hamperl ein klares Beispiel: wird bei Hunden durch Verfüttern einer fettreichen Nahrung eine Lipämie erzeugt, so zeigt das nach der Fettmahlzeit entnommene Serum ein wesentlich stärkeres Lösungsvermögen für Benzpyren als das vor der Mahlzeit untersuchte. Aus diesem Befund wird deshalb mit Recht geschlossen, daß die Körperflüssigkeiten die Fähigkeit besitzen, „selbst das völlig wasserunlösliche Benzpyren bis zu einem gewissen Grade in Lösung zu bringen." Diese Fähigkeit kommt aber nicht nur den Körperflüssigkeiten zu. Dieselben Autoren haben vielmehr gezeigt, daß auch die lebenden Gewebe, besonders embryonales Gewebe, in der Lage sind, Benzpyren molekular zu

BOSTON

lösen. Ein ähnliches Prinzip läßt sich auch in vitro anwenden. So haben LORENZ und ANDERVONT gefunden, daß das Lösungsvermögen von Pferdeserum für Dibenzanthracen durch Zusatz von Cholesterin verdreifacht wird — wobei allerdings offen bleiben muß, wie der Effekt zustande kommt.

Als weitere körpereigene Substanz, die für das Lösungsvermögen des Serums verantwortlich gemacht werden könnte, käme schließlich auch die Gruppe der Gallensäuren bzw. ihrer Abkömmlinge in Betracht. Die Tatsache, daß verschiedene gallensaure Salze das Lösungsvermögen wäßriger Flüssigkeiten erhöhen, ist schon seit dem Jahre 1851 bekannt. Ebenso ist bekannt, daß die Lösungskraft der Galle hauptsächlich der Desoxycholsäure zuzuschreiben ist. Später fand dann NEUBERG, daß diese Eigenschaft nicht nur den gallensauren Salzen, sondern auch einer ganzen Reihe von Alkali- oder Erdalkalisalzen organischer Säuren zukommt, denen er deshalb den Namen hydrotropische Substanzen gab. Unter *Hydrotropie* versteht man also nach NEUBERG die allgemeine Erscheinung, daß zahlreiche Salze von organischen Säuren die Fähigkeit aufweisen, wasserunlösliche Verbindungen in Wasser löslich zu machen.

Eine Vorstellung von der Mannigfaltigkeit der Hydrotropie gibt Tab. 6. In ihr sind die wichtigsten der zum Teil schon von NEUBERG im Jahre 1916 untersuchten organischen Säuren zusammengestellt, durch deren Alkalisalze die verschiedensten Körperklassen wie Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Ester, Nitroverbindungen, Alkaloide, Eiweißstoffe, Kohlenhydrate, Fette, Lipoide, Fettsäuren, Farbstoffe

Tabelle 6. *Beispiele hydrotrop wirkender Substanzen.*

I. Carbonsäuren:

Valeriansäure, Isovaleriansäure
Benzoesäure
Hippursäure
Amino-Halogen-Nitro-Oxybenzoesäuren
m-Toluolsäure
Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure
Mandelsäure
Naphthoesäure, Oxynaphthoesäuren
Zimtsäure
Phthalsäure
Brenzschleimsäure
Picolinsäure
Abietinsäure

II. Sulfosäuren:

Benzolsulfosäure, Benzolsulfinsäure
Toluolsulfosäure
Xylolsulfosäure
Naphthalinsulfosäuren
Cymolsulfosäure

III. Säureamide:

Formamid, Acetamid, Isovaleriansäureamid
Dialkylamide niedriger Fettsäuren
Harnstoff, Thioharnstoff
Carbaminsäureester

IV. Amine:

Äthylendiamin
Äthanolamine
Quarternäre Ammoniumverbindungen, z. B. Cetylpyridiniumchlorid

V. Alkohole:

Glykole, Polyäthylenglykole
Phenole, Naphthole

u. a. m. in Lösung gebracht werden können, und zwar um so mehr, je höher die Konzentration der angewandten hydrotropen Lösung ist. Dies darf allerdings nicht so verstanden werden, daß jede hydrotrope Substanz die Lösung *jeglichen* Stoffes vermittelt. Ähnlich wie bei den Lösungsmitteln liegen die Verhältnisse auch hier: es gibt keinen *Universal*-Lösungsvermittler. Bei dem Lösungsvorgang mit Hilfe eines Lösungsvermittlers entstehen für gewöhnlich zunächst trübe Emulsionen, so daß die Lösung nicht sofort, sondern erst nach einiger Zeit oder bei weiterem Zusatz der hydrotropen, die Oberflächenspannung vermindernden Substanz vollständig, d. h. klar wird. Auf die physikalisch-chemischen Vorgänge, die sich dabei im einzelnen abspielen, soll hier nicht eingegangen werden. Hingegen möchte ich noch auf einen überraschenden Befund hinweisen, nämlich auf die Tatsache, daß Lösungen von Eiweißstoffen, z. B. Hühnereiweiß oder Serum, bei Gegenwart hydrotroper Salze ihre Koagulierbarkeit verlieren, d. h. ohne Ausflockung beliebig gekocht werden können. Als weitere Besonderheit muß schließlich auch das auffallend hohe Lösungsvermögen hydrotroper Salzlösungen für Kalk- und Magnesiaseifen erwähnt werden, eine Eigenschaft, der gerade von seiten der Textilindustrie die größte Beachtung geschenkt wird.

Über das Ausmaß der hydrotropen Löslichkeit, die gelegentlich wie beim Sulfonal das Hundertfache der Löslichkeit in reinem Wasser betragen kann, mögen folgende Beispiele orientieren:

Nach den Angaben von Bresser ist Phenacetin bei 15° nur zu 0,07% in Wasser löslich. Wird dem Wasser jedoch benzolsulfosaures Natrium zugesetzt, so löst es sich bis zu 1,0%, bei Zusatz von toluolsulfosaurem Natrium sogar bis zu 1,5%. Beim Veronal, das sich bei 15° im Maximum nur bis 0,5% in Wasser löst, können durch Mitverwendung von toluolsulfosaurem oder benzolsulfosaurem Natrium bis zu 2,5% in Lösung gebracht werden. Beim Pyramidon läßt sich zeigen, daß seine Löslichkeit in Wasser durch Zusatz von Natriumbenzoat auf das Siebenfache gesteigert werden kann.

Wenn auch die Vielzahl der hydrotropen Substanzen zunächst überraschend ist, so läßt sich aus Tab. 6 schon bei oberflächlicher Betrachtung ableiten, daß allen diesen Stoffen eine Eigenschaft gemeinsam ist. Alle zeigen hinsichtlich ihres chemischen Aufbaues eine bestimmte Struktur, und zwar in der Weise, daß das eine Ende des Moleküls durch eine hydrophile Gruppe, in der Regel eine Carbon-, Sulfo-, Sulfin- oder Oxygruppe, das andere Ende durch eine hydrophobe Gruppe repräsentiert wird, die meist aus aliphatischen, aromatischen, hydroaromatischen, ali- oder heterocyclischen Kohlenwasserstoffresten besteht. Wird diese „Asymmetrie“ des Moleküls verringert oder zerstört, so nimmt die Hydrotropie ab. (Beispiel: das K-Salz der Benzoesäure ist stark hydrotrop. Das K-Salz der p-Oxybenzoesäure wirkt nicht hydrotrop, da sich in diesem Falle an beiden Enden des Moleküls hydrophile Gruppen befinden.) Umgekehrt nimmt sie zu, wenn die Asymmetrie ausgesprochener

wird. Ihre Zunahme nach der hydrophoben Seite des Moleküls, d. h. die Größe und die chemische Konstitution des Kohlenwasserstoffrestes, scheint es auch zu sein, die in erster Linie den technischen Verwendungszweck des hydrotropen Salzes bedingt. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, kann man sich das Lösungsvermögen hydrotroper Salze, beispielsweise das von benzoesaurem Natrium mit Neuberg so vorstellen, daß sich dieses Salz wie ein Benzol verhält, welches „lediglich durch Salzbildung an der Carboxylgruppe in Lösung gebracht sei und noch versteckt die Lösungskraft des Benzols aufweist". Anders ausgedrückt heißt das: die hydrotrope Substanz verleiht dem Wasser bis zu einem gewissen Grade den Charakter eines organischen Lösungsmittels. Dadurch wird auch verständlich, daß wäßrige Lösungen derartiger Salze in Abhängigkeit von der Zahl und dem Charakter der in ihrem Molekül steckenden hydrophilen und hydrophoben Gruppen für die verschiedenartigsten technischen Zwecke, beispielsweise zur Herstellung von Lösungen, Emulsionen oder Dispersionen Verwendung finden können. Weiterhin wird klar, daß hydrotrope Stoffe, soweit sie im Körper entstehen, auf Grund ihres Lösungsvermögens im Stoffwechsel tierischer und pflanzlicher Organismen eine wichtige Rolle spielen können.

Die Fähigkeit zur Hydrotropie beschränkt sich nicht nur auf die von Neuberg angegebene und später von anderer Seite vervollständigte Liste von Salzen organischer Säuren (z. B. Cholestenonsulfosäure, Xylolsulfosäure). Sie findet sich vielmehr auch bei einer ganzen Anzahl von einfachen oder substituierten Säureamiden, ja sogar bei einfachen aliphatischen Aminen.

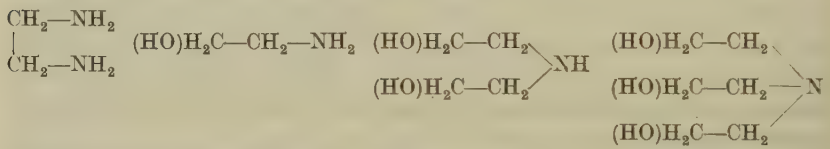
Als Beispiel für die zuerst genannten Verbindungen sei hier zunächst die hydrotrope Wirksamkeit von Abkömmlingen der Carbamin- und Thiocarbaminsäure wie Harnstoff, Thioharnstoff, Urethan und andere Ester der Carbaminsäure, beispielsweise Methyl-, Propyl-, Isoamyl-, Allyl- und Glycerinester angeführt, wobei hervorzuheben ist, daß Urethan, d. h. das Monoamid eine größere Lösefähigkeit aufweist als das Diamid Harnstoff. Gute hydrotrope Eigenschaften besitzen weiterhin wäßrige Lösungen von Formamid, Acetamid und Isovaleriansäureamid — etwa für Chinin — sowie Dialkylamide niedriger Fettsäuren.

Das bekannteste Beispiel für die Anwendung der vorhin erwähnten aliphatischen Amine als Lösungsvermittler liefert das Theophyllin. Die Löslichkeit dieses Purinabkömmlings läßt sich zwar auch durch hydrotrope Salze wie essigsaures, benzoesaures oder salicylsaures Natrium (bzw. durch die Alkalisalze der Chinolincarbonsäure, durch Campher-säure, Camphosulfonsäure oder Camphocarbonsäure sowie schließlich auch durch Verwendung von p-Aminobenzoyldiäthylaminoäthanol-hydrochlorid bzw. m-Amino-p-oxybenzoesäureäthylester) eindeutig steigern, aber abgesehen von der nicht immer gegebenen pharmakologischen

Unbedenklichkeit des benutzten Lösungsvermittlers sind manche der bei diesem Vorgang entstehenden Produkte (eine Komplexbildung findet nicht statt) immer noch so schwer in Wasser löslich, daß sie für den angestrebten Verwendungszweck, nämlich für parenterale Verabfolgung, nicht in Betracht kommen.

Die Herstellung wäßriger Theophyllinlösungen geeigneter Konzentration kann jedoch in befriedigender Weise dadurch erreicht werden, daß man an Stelle der vorhin genannten Stoffe als Lösungsvermittler leicht wasserlösliche aliphatische Amine wie Äthylendiamin, Mono-, Di- oder Triäthanolamin zur Anwendung bringt. Der Erfolg dieser Bemühungen sind die bekannten Handelspräparate „Euphyllin", ein Theophyllin-Äthylendiamin, „Unophyllin", ein Theophyllin-Monoäthanolamin sowie „Deriphyllin", ein Theophyllin-Diäthanolamin.

Obwohl alle diese Präparate in lösungstechnischer Hinsicht einen bedeutsamen Fortschritt darstellen, so darf nicht übersehen werden, daß die hier als Lösungsvermittler benutzten Amine auch Eigenwirkungen entfalten, die, soweit sie die unerwünschte akut einsetzende Blutdrucksenkung betreffen, bei dem Lösungsvermittler Äthylendiamin ausgesprochener zu sein scheinen als bei dem ebenfalls zur Steigerung der Löslichkeit von Theophyllin benutzten Diäthanolamin.

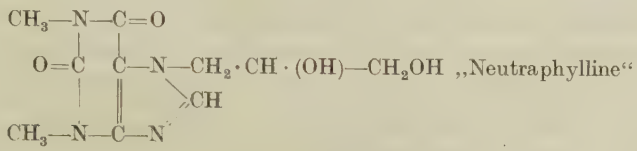


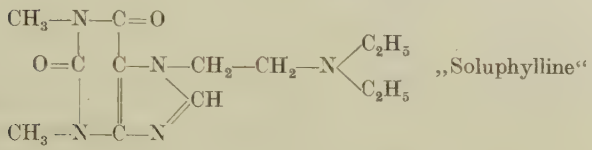
Äthylendiamin | Monoäthanolamin | Diäthanolamin | Triäthanolamin

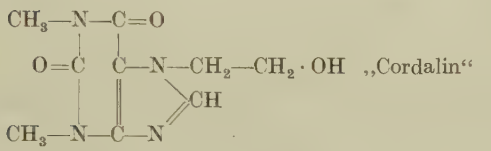
Zu ihrer Ausschaltung hat man neuerdings, besonders in Frankreich, einen anderen Weg beschritten, um Theophyllin wasserlöslich zu machen. Er besteht darin, daß man das Theophyllin in 7-Stellung in geeigneter Weise substituiert und ihm so ohne wesentliche Änderung seiner Grundwirkung die erstrebte Wasserlöslichkeit verleiht. Dieser chemische Weg der Lösungsvermittlung führte in Frankreich zu den Präparaten „Neutraphylline" und „Soluphylline", in Deutschland zu „Cordalin", deren Zusammensetzung aus den nachstehenden Formelbildern ersichtlich ist (Dihydroxypropyl-, Diäthylaminoäthyl-, Oxyäthyl-Gruppe als Substituent).

Der Vorteil dieser Verbindungen besteht u. a. darin, daß mit dem Wegfall von Lösungsvermittlern und deren Eigenwirkungen der Theophyllineffekt hier unverfälscht zur Wirkung kommt. Das bedeutet einen Fortschritt, denn einen idealen Lösungsvermittler, der hinsichtlich seiner Eigenschaften *allen* pharmakologischen Ansprüchen gerecht wird, gibt es, wie ich schon betonte, ebensowenig wie ein ideales Lösungsmittel.

In diesem Zusammenhang wäre noch einmal auf die im ersten Teil der vorliegenden Ausführungen bereits kurz gestreiften Polyäthylenglykole einzugehen. Sie haben sich zum Wasserlöslichmachen an sich nur







fettlöslicher Stoffe bewährt, indem man sie nach Schöller in unlösliche oder schwer lösliche Ausgangsstoffe mit substituierbaren Wasserstoffatomen einführt. Neben diesem chemischen Weg der Lösungsvermittlung kann das in den Polyäthylenglykolen schlummernde Lösungsvermögen für Fette und das ihnen an sich eigene Wasserlösungsvermögen willkürlich gesteuert werden, indem durch Verlängerung der Polyäthylenglykol-Kette die Wasserlöslichkeit, durch Einführung lipophiler Substituenten das Lösungsvermögen für Fette verbessert wird. Das Produkt ist ein dem jeweiligen Verwendungszweck angepaßter Lösungsvermittler (Beispiele in Tab. 7).

Obwohl der Wirkungsmechanismus der Lösungsvermittler im einzelnen noch dunkel ist, so kommt derartigen Stoffen über die Anwendung in der pharmazeutischen Industrie hinaus eine immer mehr zunehmende Bedeutung in der Technik, namentlich in der Farben-, Zellstoff- und Textilindustrie zu. Gegenüber den bisher für Extraktionszwecke fast ausschließlich benutzten organischen Lösungsmitteln haben die hydrotropen wäßrigen Lösungen eine Reihe von Vorzügen, von denen neben der fehlenden Brennbarkeit, der Vermeidung von Verlusten durch Verdunstung, der Nichtflüchtigkeit und leichten Regenerierbarkeit insbesondere ihre weitgehende gewerbetoxikologische Unbedenklichkeit zu nennen ist. Trotzdem dürfte es ratsam sein, daß die Arbeitsmedizin der weiteren Entwicklung auf diesem Gebiet Beachtung schenkt.

Die Besonderheit eines Lösungsvermittlers besteht also — rein vorstellungsmäßig — darin, daß er durch den hydrophilen Bestandteil des Moleküls Wasserlöslichkeit, durch den lipophilen Bestandteil des Moleküls Fettlöslichkeit vermittelt. Außerdem kann eine in ihrer Wirkung noch nicht völlig bekannte Beeinflussung der Oberflächenspannung des Wassers eine Rolle spielen, auf die hier aber ebensowenig eingegangen werden soll wie auf die übrigen Theorien der Lösungsvermittlung.

Tabelle 7. *Beispiele für Derivate von Polyäthylenglykolen.*

		$HO \cdot CH_2 \cdot (CH_2-O-CH_2)_n \cdot CH_2 \cdot OH$
Substituent		Reaktionsprodukt
Alkohol	$R-OH$	$\xrightarrow{-H_2O}$ $R-O-CH_2 \cdot (CH_2-O-CH_2)_n \cdot CH_2 \cdot OH$
Säure	$R-C(=O)-OH$	$\xrightarrow{-H_2O}$ $R-C(=O)-O-CH_2 \cdot (CH_2-O-CH_2)_n \cdot CH_2 \cdot OH$
Säureamid	$R-C(=O)-NH_2$	$\xrightarrow{-2\,H_2O}$ $R-C(=O)-N(CH_2 \cdot (CH_2-O-CH_2)_n \cdot CH_2 \cdot OH)_2$
Amin	$R-NH_2$	$\xrightarrow{-2\,H_2O}$ $R-N(CH_2 \cdot (CH_2-O-CH_2)_n \cdot CH_2 \cdot OH)_2$

R = aliphat., aromat., aliphat.-aromat., heterocycl. Rest.

Literatur.

A. Lösungsmittel[1].

Übersichtsarbeiten.

Baader, E. W.: Klinik d. Vergiftungen durch nichtaromatische Lösungsmittel. Internat. Kongreß f. Unfallmedizin u. Berufskrankheiten. Frankfurt/M. 1938. — Betke, H. R.: Lösungsmittel u. Arbeitshygiene. Pharmazeut. Ind. **13**, 160 (1951). — Borbély, F.: Erkennung u. Behandlung d. organischen Lösungsmittelvergiftungen. Bern: Medizinischer Verlag Hans Huber 1946. — Browning, E.: Toxicity of Industrial Organic Solvents. Med. Res. Council Ind. Health Res. Board, Rep. No. 80, London 1937. — Doerr, W.: Pathologische Anatomie d. Glykolvergiftung u. des Alloxandiabetes. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Heidelberg 1949. — Dumez, A. G.: Pharmaceutical Uses of the Glycols and their Derivatives. J. Amer. Pharm. Assoc. **28**, 416 (1939). — Durrans, T. H.: Solvents. 6. Aufl. New York: D. van Nostrand Comp. Inc. 1950. — Fabre, R., et R. Truhaut: Métabolisme des solvants. Acta Pharm. Intern. **1**, 187 (1950). — Ann. Méd. lég. etc. **29**, 233 (1949). — Flury, F.: Moderne gewerbliche Vergiftung in phar-

[1] Zusammengestellt unter Mitarbeit von G. Bornmann. Es wurden im wesentlichen die ab 1930 erschienenen Arbeiten berücksichtigt.

makologisch-toxikologischer Hinsicht. Ref. 8. Tagung d. Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, Hamburg 1928. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **138**, 65 (1928). — Flury, F., u. H. Zangger: Lehrbuch d. Toxikologie. Berlin: Springer 1928. — Flury, F., u. F. Zernik: Schädliche Gase. Berlin: Springer 1931. — Flury, F., u. W. Wirth: Zur Toxikologie der Lösungsmittel. Arch. f. Gewerbehyg. u. Gewerbepath. **5**, 1 (1934). — Flury, F.: Chemie u. Toxikologie der Lösungsmittel. Internat. Kongreß f. Unfallmed. u. Berufskrankheiten. Frankfurt/M. 1938. — Forst, A. W.: Giftigkeit der Glykole. Vortrag Tagung Deutscher Chemiker (Gruppe Lebensmittelchemie). München 1949. — Führer, H., W. Wirth u. G. Hecht: Medizinische Toxikologie. 3. Aufl. Stuttgart: Thieme 1951. — Gnamm, H.: Die Lösungsmittel und Weichmachungsmittel. 6. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H. 1950. — Goodman, L., and A. Gilman: The pharmacological basis of therapeutics. New York: The MacMillan Comp. 1940. — Gross, M., and L. A. Greenberg: The Salicylates. New Haven: Hillhouse Press 1948. — Jacobs, M. B.: The analytical chemistry of industrial poisons, hazards and solvents. 2. Aufl. New York, London: Interscience Publishers 1949. — Jaensch, P. A.: Augenschädigungen in Industrie und Gewerbe. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H. 1949. — Kärber, G.: Die amtliche Prüfung neuer Arzneifertigwaren in Berlin (1947—1951). Pharmaz. Ztg.-Nachr. **1952**, Nr. 8 und 9. — Lehmann, K. B., u. F. Flury: Toxikologie u. Hygiene d. technischen Lösungsmittel. Berlin: Springer 1938. — Lewin, L.: Gifte und Vergiftungen. Berlin: Stilke 1928. — Mellan, I.: Industrial Solvents. New York: Reinhold Publishing Corp. 1939. — Moeschlin, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen. Stuttgart: Thieme 1952. — v. Oettingen, W. F.: The halogenated hydrocarbons, their toxicity and potential dangers. J. Ind. Hyg. Toxicol. **19**, 349 (1937). — The aliphatic alcohols: their toxicity and potential dangers in relation to their chemical constitution and their fate in metabolism. US Public Health Service, Public Health Bulletin No. 281 (1943). — Petri, E.: Pathologische Anatomie und Histologie der Vergiftungen. In: Henke-Lubarsch, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. X. Berlin: Springer 1930. — Quadbeck, G.: Äthylenglykol und verwandte Verbindungen als pharmazeutische Lösungsmittel. Chemiker-Zeitung **74**, 91 (1950). — Schlenk, O.: Die Salicylsäure. Arzneimittel-Forschungen, Bd. 3. Berlin: Dr. W Saenger 1947. — Schmidt, A.: Glykole, Glykoläther und Glyzerin. Pharmazeutische Zentralhalle **88**, 203, 236 (1949). — Scholz, J.: Zur Toxikologie einiger für medizinische Zwecke gebräuchlicher organischer Lösungsmittel. Arch. Pharmaz. **277**, 145 (1939). — Sollmann, T.: A Manual of Pharmacology. 7. Aufl. Philadelphia, London: W. B. Saunders Comp. 1949. — Starkenstein, E., E. Rost u. J. Pohl: Toxikologie. Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1929. — Wurzschmitt, B.: Einsatz von Glykolverbindungen bei der Herstellung von Bedarfsgegenständen. Vortrag Sitzung der Kommission Lebensmittelchemie des Gesundheitsausschusses der US-Zone. Stuttgart 1949. — Zangger, H.: Die modernen Gifte in forensisch-gewerbetoxikologischer Hinsicht. Ref. 8. Tagung d. Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft. Hamburg 1928. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **138**, 82 (1928).

Zu speziellen gewerbetoxikologischen Fragen siehe auch Hand- und Lehrbücher der Gewerbehygiene.

Einzelarbeiten[1].

Chlorverbindungen.

Barrett, H. M., D. L. MacLean and J. G. Cunningham: J. Ind. Hyg. Toxicol. **20**, 360 (1938). — Butler, T. C.: J. of Pharmacol. **92**, 49 (1948); **97**, 84 (1949). — Carpenter, C. P.: J. Ind. Hyg. Toxicol. **19**, 323 (1937). — Drinker,

[1] Weitere Literatur siehe in den entsprechenden Übersichtsarbeiten.

C. K., M. F. Warren and G. A. Bennett: J. Ind. Hyg. Toxicol. **19**, 283 (1937). — Hart, E. R., and L. W. Conn: J. of Pharmacol. **98**, 12 (1950). — Heppel, L. A., P. A. Neal, T. L. Perrin, K. M. Endicott and V. T. Porterfield: J. of Pharmacol. **84**, 53 (1945). — Heppel, L. A., B. Highman and V. T. Porterfield: J. of Pharmacol. **87**, 11 (1946). — MacCollister, D. D., W. H. Beamer, G. J. Atchison and H. C. Spencer: J. of Pharmacol. **102**, 112 (1951). — v. Oettingen, W. F., C. C. Powell, N. E. Sharpless, W. C. Alford and L. J. Pecora: Arch. internat. Pharmacodynamie **81**, 17 (1950). — Richter, M. L.: J. of Pharmacol. **102**, 94 (1951). — Taylor, H.: J. Ind. Hyg. Toxicol. **18**, 175 (1936). — Teleky, L.: Klin. Wschr. **6**, 845, 897 (1927).

Isopropylalkohol

Baader, E. W.: Zbl. f. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **1951**, 90. — Burlage, H. M., and D. B. Hawkins: J. Amer. Pharm. Assoc. **35**, 379 (1946). — Burlage, H. M.: J. Amer. Pharm. Assoc. **36**, 16 (1947); **37**, 345 (1948). — Keeser, E.: Zbl. f. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **1951**, 25, 90. — Lehman, A. J., H. Schwerma and E. Rickards: J. of Pharmacol. **85**, 61 (1945). — Morris, H. J., and H. D. Lightbody: J. Ind. Hyg. Toxicol. **20**, 428 (1938). — Wax, J., F. W. Ellis and A. J. Lehman: J. of Pharmacol. **97**, 229 (1949).

Glykole

Bauschinger, C.: Fette u. Seifen **36**, 723 (1939). — Berry, H., and I. Michaels: J. Pharmacy and Pharmacol. **2**, 243 (1950). — Bornmann, G.: Pharmazie **1950**, 423. — Bornmann, G., u. A. Loeser: Arch. internat. Pharmacodynamie **82**, 306 (1950). — Bornmann, G., A. Loeser u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 361 (1950). — Bornmann, G., R. Kopf u. G. Meyer: Z. exper. Med. **116**, 87 (1950). — Bornmann, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 114 (1951). — Arzneimittel-Forschg **1952**, 122. — Unveröffentlichte Versuche. — Braun, H. A., and G. F. Cartland: J. Amer. Pharm. Assoc. **25**, 746 (1936). — Brown, C. L. M.: Pharmaceut. J. **140**, 49 (1938). — Bucciardi, G.: Arch. ital. Sci. farmacol. **8**, 1 (1939). — Catron, L. F., and H. B. Lewis: J. of Biol. Chem. **84**, 553 (1929). — Chiray, M., L. Justin-Besançon, G. Albot and J. Dieryck: Ann. d'anat. path. **16**, 393 (1939). — Diemair, W., u. J. Kleber: Z. Unters. Lebensmitt. **81**, 385 (1941). — Dille, J. M.: J. Amer. Pharm. Assoc. **23**, 202 (1934). — Doerr, W., A. Kraft u. J. Rauschke: Klin. Wschr. **1946/47**, 749. — Dyson, G. M.: The Industr. Chem. **10**, 102 (1934). — Fellows, J. K., F. P. Luduena and P. J. Hanzlik: J. of Pharmacol. **89**, 210 (1947). — Fischer, L., R. Kopf, A. Loeser u. G. Meyer: Z. exper. Med. **115**, 22 (1949). — Goldwater, L. J.: Industr. Bull. **16**, 308, 438 (1937). — Haag, H. B., and W. R. Bond: J. Labor. a. Clin. Med. **12**, 882 (1927). — Hanzlik, P. J., M. A. Seidenfeld and C. C. Johnson: J. of Pharmacol. **41**, 387 (1931). — Hanzlik, P. J.: Industr. and Engin. Chem. **24**, 836 (1932). — Hanzlik, P. J., H. G. Mertens and J. B. Spaulding: J. of Pharmacol. **49**, 300 (1933). — Hanzlik, P. J., H. W. Newman, W. van Winkle jr., A. J. Lehman and N. K. Kennedy: J. of Pharmacol. **67**, 101 (1939). — Hanzlik, P. J., A. J. Lehman, W. van Winkle jr. and N. K. Kennedy: J. of Pharmacol. **67**, 114 (1939). — Hanzlik, P. J., F. P. Luduena, W. S. Lawrence and H. Hanzlik: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 190 (1947). — Hanzlik, P. J., W. S. Lawrence and G. L. Laqueur: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 233 (1947). — Hanzlik, P. J., W. S. Lawrence, J. K. Fellows, F. P. Luduena and G. L. Laqueur: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 325 (1947). — Happold, F. C., and C. P. Spencer: Biochimica et Biophysica Acta **8**, 18 (1952). — Hinrichs, A., R. Kopf u. A. Loeser: Pharmazie **1948**, 110. — Holck, H. G. O.: J. Amer. Med. Assoc. **109**, 1517 (1937). — Hunt, R.: Industr. and Engin. Chem. **24**, 361,

836 (1932). — Hüsing, E., R. Kopf u. A. Loeser: Fette u. Seifen **52**, 45 (1950). — Johnson, V., A. J. Carlson and A. Johnson: Amer. J. Physiol. **103**, 517 (1933). — Karel, L., B. H. Landing and T. S. Harvey: J. of Pharmacol. **90**, 338 (1947). — Kesten, H. D., M. G. Mulinos and L. Pomerantz: Arch. Path. (Amer.) **25**, 759 (1938). — Kleber, J.: Diss. Frankfurt/M. 1939. — Kleinsorg, H., C. G. Schmidt u. A. Loeser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 235 (1950). — Kliewe, H.: Zbl. Bakter. **148**, 388 (1942). — Gesundheits-Ingenieur **1943**, 181. — Kopf, R., A. Loeser, G. Meyer u. W. Franke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 346 (1950). — Kopf, R., A. Loeser u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 405 (1951). — Latven, A. R., and H. Molitor: J. of Pharmacol. **65**, 89 (1939). — Laug, E. P., H. O. Calvery, H. J. Morris and G. Woodard: J. Ind. Hyg. Toxicol. **21**, 173 (1939). — Launoy, L.: J. Pharmacie IX. s. **2**, 99 (1942). — Lehman, A. J., and H. W. Newman: J. of Pharmacol. **60**, 312 (1937). — Lepkovsky, S., R. A. Ouer and H. M. Evans: J. of Biol. Chem. **108**, 431 (1935). — Loeser, A.: Pharmazie **1949**, 263. — Loeser, A., u. E. Stürmer: Fette u. Seifen **54**, 87 (1952). — Mauro, V.: Fol. med. (Napoli) **25**, 840, 986, 1026 (1939). — Meyer, G.: Fette u. Seifen **53**, 88 (1951). — Meyer, G., u. H. Schürmeyer: Klin. Wschr. **1951**, 231. — Meyer, G., u. E. Stürmer: Arch. internat. Pharmacodynamie **90**, 193 (1952). — Miura, S.: Biochem. Z. **36**, 25 (1911). — Morris, H. J., A. A. Nelson and H. O. Calvery: J. of Pharmacol. **74**, 266 (1942). — Newman, H. W., W. van Winkle jr., N. K. Kennedy and M. C. Morton: J. of Pharmacol. **68**, 194 (1940). — v. Oettingen, W. F., and E. A. Jirouch: J. of Pharmacol. **42**, 355 (1931). — Page, I. H.: J. of Pharmacol. **30**, 313 (1927). — di Prisco, L., e M. Szwaro: Fol. med. (Napoli) **26**, 287 (1940). — Rae, J.: Pharmaceut. J. **1935**, 590; **1938**, 517; **1944**, 122; **1948**, 125. — Robertson, O. H., E. Bigg, T. T. Puck and B. Miller: J. of Exper. Med. **75**, 593 (1943). — Robertson, O. H., C. G. Loosli, T. T. Puck, H. Wise, H. M. Lemon and W. Lester jr.: J. of Pharmacol. **91**, 52 (1947). — Schneider, W., u. R. Beck: Ther. Gegenw. **1948**, 1. — Schneider, W.: Fette u. Seifen **52**, 423 (1950). — Die Pharmazeutische Industrie **1950**, 226. — Scholz, J.: Klin. Wschr. **28**, 69 (1950). — Seidenfeld, M. A., and P. J. Hanzlik: J. of Pharmacol. **44**, 109 (1932). — Smyth jr., H. F., J. Seaton and L. Fischer: J. Ind. Hyg. Toxicol. **23**, 259 (1941). — Weatherby, J. H., and H. B. Haag: Amer. J. Pharm. **109**, 478 (1937). — J. Amer. Pharm. Assoc. **27**, 466 (1938). — Wiley, F. H., W. C. Hueper and W. F. v. Oettingen: J. Ind. Hyg. Toxicol. **18**, 123 (1936). — Wiley, F. H., W. C. Hueper, D. S. Bergen and F. R. Blood: J. Ind. Hyg. Toxicol. **20**, 269 (1938). — van Winkle jr., W., and N. K. Kennedy: J. of Pharmacol. **69**, 140 (1940). — van Winkle jr., W.: J. of Pharmacol. **72**, 227, 344 (1941).

Äther und Ester der Glykole.

Berry, H., and I. Michaels: J. Pharmacy and Pharmacol. **2**, 243 (1950). — Doerr, W., A. Kraft u. J. Rauschke: Klin. Wschr. **1946/47**, 749. — Fellows, J. K., F. P. Luduena and P. J. Hanzlik: J. of Pharmacol. **89**, 210 (1947). — Greenburg, L., M. R. Mayers, L. J. Goldwater, W. J. Burke and S. Moskowitz: J. Ind. Hyg. Toxicol. **20**, 134 (1938). — Hanzlik, P. J., F. P. Luduena, W. S. Lawrence and H. Hanzlik: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 190 (1947). — Hanzlik, P. J., W. S. Lawrence and G. L. Laqueur: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 233 (1947). — Hanzlik, P. J., W. S. Lawrence, J. K. Fellows, F. P. Luduena and G. L. Laqueur: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 325 (1947). — Hrubetz, M. C., and J. K. MacNamee: J. of Pharmacol. **101**, 19 (1951). — Karel, L., B. H. Landing and T. S. Harvey: J. of Pharmacol. **90**, 338 (1947). — Kesten, H. D., M. G. Mulinos and L. Pomerantz: Arch. Path. (Amer.) **25**, 759 (1938). — Latven,

A. R., and H. Molitor: J. of Pharmacol. **65**, 89 (1939). — Laug, E. P., H. O. Calvery, H. J. Morris and G. Woodard: J. Ind. Hyg. Toxicol. **21**, 173 (1939). — Lepkovsky, S., R. A. Ouer and H. M. Evans: J. of Biol. Chem. **108**, 431 (1935). — Luduena, F. P., W. S. Lawrence, J. K. Fellows, W. H. Clark and P. J. Hanzlik: Arch. internat. Pharmacodynamie **75**, 1 (1947). — Morris, H. J., A. A. Nelson and H. O. Calvery: J. of Pharmacol. **74**, 266 (1942). — v. Oettingen, W. F., and E. A. Jirouch: J. of Pharmacol. **42**, 355 (1931). — Shideman, F. E., and L. Procita: J. of Pharmacol. **102**, 79 (1951). — Smyth jr., H. F., J. Seaton and L. Fischer: J. Ind. Hyg. Toxicol. **23**, 259 (1941). — Walther, R.: Arch. Gewerbepath. u. Gewerbehyg. **11**, 326 (1942). — Werner, H. W., J. L. Mitchell. J. W. Miller and W. F. v. Oettingen: J. Ind. Hyg. Toxicol. **25**, 157 (1943).

Polyäthylenglykol.

Benk, E.: Fette u. Seifen **54**, 85 (1952). — Fitzhugh, O. G., and A. A. Nelson: J. Ind. Hyg. Toxicol. **28**, 40 (1946). — Haag, H. B., and A. M. Ambrose: J. of Pharmacol. **59**, 93 (1937). — Hanzlik, P. J., H. W. Newman, W. van Winkle jr., A. J. Lehman and N. K. Kennedy: J. of Pharmacol. **67**, 101 (1939). — Hanzlik, P. J., W. S. Lawrence, J. K. Fellows, F. P. Luduena and G. L. Laqueur: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 325 (1947). — Harris, P. N.: Arch. internat. Pharmacodynamie **79**, 164 (1949). — Holck, H. G. O.: J. Amer. Med. Assoc. **109**, 1517 (1937). — Hopper, S. S., H. R. Hulpieu and V. V. Cole: J. Amer. Pharm. Assoc. **37**, 428 (1948). — Kärber, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 509 (1951). — Karel, L., B. H. Landing and T. S. Harvey: J. of Pharmacol. **90**, 338 (1947). — Kesten, H. D., M. G. Mulinos and L. Pomerantz: Arch. Path. (Amer.) **25**, 759 (1938). — Kesten, H. D.: J. Amer. Med. Assoc. **109**, 1509 (1937). — Latven, A. R., and H. Molitor: J. of Pharmacol. **65**, 89 (1939). — Laug, E. P., H. O. Calvery, H. J. Morris and G. Woodard: J. Ind. Hyg. Toxicol. **21**, 173 (1939). — Launoy, L.: J. Pharmacie, IX. s. **2**, 99 (1942). — Lauter, W. M., and V. L. Vrla: J. Amer. Pharm. Assoc. **29**, 5 (1940). — Loeser, A., u. E. Stürmer: Fette u. Seifen **54**, 87 (1952). — Luduena, F. P., J. K. Fellows, G. L. Laqueur and R. L. Driver: J. Ind. Hyg. Toxicol. **29**, 390 (1947). — Meyer, G., u. E. Stürmer: Arch. internat. Pharmacodynamie 90, 193 (1952). — Morris, H. J., A. A. Nelson and H. O. Calvery: J. of Pharmacol. **74**, 266 (1942). — Newman, H. W., W. van Winkle jr., N. K. Kennedy and M. C. Morton: J. of Pharmacol. **68**, 194 (1940). — v. Oettingen, W. F., and E. A. Jirouch: J. of Pharmacol. **42**, 355 (1931). — Robertson, O. H., C. G. Loosli, T. T. Puck, H. Wise, H. Lemon and W. Lester jr.: J. of Pharmacol. **91**, 52 (1947). — Schneider, W.: Fette u. Seifen **52**, 423 (1950). — Schöller. C.: Angew. Chem. **62**, 7 (1950). — Shaffer, C. B., and F. H. Critchfield: J. Amer. Pharm. Assoc. **36**, 152 (1947). — Shaffer, C. B., F. H. Critchfield and C. P. Carpenter: Amer. J. Physiol. **152**, 93 (1948). — Shaffer, C. B., F. H. Critchfield and J. H. Nair: J. Amer. Pharm. Assoc. **39**, 340, 344 (1950). — Shideman, F. E., and L. Procita: J. of Pharmacol. **103**, 293 (1951); hier auch Angaben über Polypropylenglykole. — Smyth, H. F., J. Seaton and L. Fischer: J. Ind. Hyg. Toxicol. **23**, 259 (1941). — Smyth, H. F., C. P. Carpenter, C. B. Shaffer, J. Seaton and L. Fischer: J. Ind. Hyg. Toxicol. **24**, 281 (1942). — Smyth, H. F., C. P. Carpenter and C. B. Shaffer: J. Amer. Pharm. Assoc. **36**, 157 (1947). — Smyth, H. F., C. P. Carpenterand C. S. Weil: J. Amer. Pharm. Assoc. **39**, 349 (1950). — Spiselman, J. W.: zit. nach Ref. aus d. techn. Gebiet d. chem. Ind. (Farbenfabriken Bayer, Leverkusen) Nr. 1061 (1950). — Weatherby, J. H., and G. Z. Williams: J. Amer. Pharm. Assoc. **28**, 12 (1939). — Wiley, F. H., W. C. Hueper, D. S. Bergen and F. R. Blood: J. Ind. Hyg. Toxicol.

20, 269 (1938). — van Winkle jr., W., and N. K. Kennedy: J. of Pharmacol. **69**, 140 (1940). — Woodard, G.: zit. nach Fitzhugh, O. G., and A. A. Nelson: J. Ind. Hyg. Toxicol. **28**, 40 (1946).

Polyäthylenglykol-Verbindungen.

Culver, P. J., C. S. Wilcox, C. M. Jones and R. S. Rose jr.: J. of Pharmacol. **103**, 377 (1951). — Keeser, E.: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 371 (1951). — Krantz jr., J. C., C. J. Carr, J. G. Bird and S. Cook: J. of Pharmacol. **93**, 188 (1948). — Krantz jr., J. C., C. J. Carr, H. M. Bubert and J. G. Bird: J. of Pharmacol. **97**, 125 (1949). — Linde, S.: Acta physiol. scand. **21**, Suppl. 74 (1950). — Schöller, C.: Angew. Chem. **62**, 7 (1950). — Schulz, K. H., A. Harz u. K. Soehring: Klin. Wschr. **1952**, 663. — Schulz, K. H., G. Madaus u. K. Soehring: Arch. internat. Pharmacodynamie **86**, 100 (1951). — Siems, K. J., u. K. Soehring: Arzneimittel-Forschg **1952**, 109. — Soehring, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 129 (1950). — Soehring, K., K. Scriba, M. Frahm u. G. Zoellner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 301 (1951). — Strack, K.: Münch. med. Wschr. **1950**, Sp. 878.

B. Lösungsvermittler.

Bresser, A.: Südd. Apothekerzeitung **1934**, 644. — Brock, N., H. Druckrey u. H. Hamperl: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 709 (1938). — Dereser, R.: Angew. Chem. **1951**, 327. — Freundlich, H., u. G. V. Slottman: Biochem. Z. **188**, 101 (1927). — Grüter, R.: Münch. med. Wschr. **1936**, 1091. — Hildebrandt, F.: Dtsch. med. Wschr. **1952**, 13. — Kohlstaedt, E., u. O. W. Lürmann: Pharmazie **1947**, 305. — Lorenz, E., and H. B. Andervont: Amer. J. Canc. **26**, 783 (1936). — Lürmann, O. W., u. W. Böres: Dtsch. med. Wschr. **1952**, 15. — Marquardt, P., u. R. Koch: Pharmazie **1946**, 59. — Neuberg, C.: Biochem. Z. **76**, 113 (1916). — Neuberg, C., u. F. Weinmann: Biochem. Z. **229**, 467 (1930). — Truitt jr., E. B., V. A. MacKusick and J. C. Krantz jr.: J. of Pharmacol. **100**, 309 (1950). — Verzàr, F.: Erg. Physiol. **32**, 421 (1931). — Wieland, H., u. H. Sorge: Z. physiol. Chem. **97**, 1 (1916). — Windaus, A., u. S. Rennhack: Z. physiol. Chem. **249**, 257 (1937). — v. Wistinghausen: Diss. Dorpat 1851; zit. nach Neuberg, C., u. F. Weinmann. — Zipf, K.: Z. physiol. Chem. **187**, 214 (1930).

Diskussion. v. Brücke: Mitteilung eines Todesfalles nach Einnahme von 50 cm³ Äthylenglykol an Stelle von Glycerin.

Kärber sieht die Frage der Toxizität des Äthylenglykols nicht als abgeschlossen an. Er weist auf eine Reihe tödlicher Vergiftungen von Kindern nach Trinken eines aus technisch reinem Äthylenglykol bestehenden Massagemittels hin (unveröffentlicht). Der Runderlaß des früheren Reichsministers des Innern über Glykole usw. (1942) war eine Richtlinie zur Durchführung des Lebensmittelgesetzes und hätte auf Grund neuer Tatsachen im Bedarfsfall abgeändert werden können. Eine Lähmung der Forschung kann hierin kaum gesehen werden. Außerdem lag für die Ausschaltung der Glykole usw. die vorherige Zustimmung eines hervorragenden deutschen Pharmakologen vor. Grundsätzlich kann die Glykolfrage auch nicht für sich allein, sondern nur im Rahmen des allgemeinen Ansturms der Chemie auf unsere Lebensmittel betrachtet werden. Die Probleme können sich hier plötzlich ungeahnt ausweiten, so als während des letzten Krieges ernsthaft erörtert wurde, unser gesamtes Nahrungsfett zur Glyceringewinnung mit Äthylenglykol umzuestern. Dies konnte vom Reichsgesundheitsamt verhindert werden.

Brock: Eine pharmakologische Beurteilung der verschiedenen Glykole ist nur individuell, nicht gruppenweise möglich. Vorsicht bei Äthylenglykol einerseits und Polyglykolen andererseits. 1,2-Propylenglykol und 1,3-Butylenglykol sind

sowohl lokal wie resorptiv weitgehend unschädlich. 1,3-Butylenglykol (15%) als Bestandteil von Schüttelmixturen (gemeinsam mit Gahlen) bei akuten Ekzemen geprüft, voll vertragen. Ebenso 25%ig als Bestandteil von Zinkleimpräparationen (Glycerinersatz) in mehr als 50000 Fällen. Niemals lokale Reizwirkung oder gar Schädigung beobachtet.

In den am Menschen im allgemeinen verwendeten Dosen (2—5 cm^3) haben bei subcutaner und intramuskulärer Applikation von 1,2-Propylenglykol als Lösungsmittel wasserunlöslicher Pharmaka weder lokal noch resorptiv irgendwelche Schäden gezeigt.

Oettel hält die Beurteilung von Glykolen und Glykol-Derivaten nach der peroralen Ratten-Toxizität für gefährlich: Auf Grund der geringen Toxizität von Diäthylenglykol für Ratten (LD 50 höher als 20 cm^3/kg) wurde es als Lösungsmittel für Sulfonamide benutzt und wirkte in dem berüchtigten Elixier Massengill in Mengen von 15—100 cm^3 je Mensch tödlich! Ratten vertragen auch von Propylenglykol mehr als 20 cm^3/kg ohne jede Wirkung; bei der Katze wirken aber bereits peroral 2 cm^3/kg narkotisch, nach 1mal 5 cm^3/kg erfolgt der Tod in einigen Tagen. Toxizitätsversuche an Katzen sagen wesentlich mehr über die etwaigen Gefahren für den Menschen. Sie sollten viel häufiger durchgeführt werden.

Hahn weist auf 4 Fälle von tödlicher Diäthylenglykolvergiftung bei Frauen, denen 50 cm^3 eines verunreinigten Diäthylenglykols als „Glycerinersatz" rectal nach gynäkologischen Operationen verabreicht worden waren, hin. In der Literatur sind gelegentlich bei Glykolvergiftungen Verwechslungen in der Bezeichnung der Glykole vorgekommen, worauf zu achten ist. Die Symptomatologie der Vergiftungen ist bei manchen Glykolen verschieden.

Enders hält es für möglich, daß auch geringe, aus Äthylenglykol entstehende Oxalsäuremengen toxisch wirken, weil infolge anderer primärer Löslichkeit des Glykols die Oxalsäure heterotopisch zur Wirkung kommt.

Heubner erinnert an die Nierenwirkung anderer Dicarbonsäuren analog Oxalsäure (ohne Calciumfällung).

Hauschild weist zur Frage der in Frankreich entwickelten wasserlöslichen neutralen Theophyllinderivate mit Substitution in 7-Stellung auf eigene (1938—40) mit derartigen, u. a. dem Neutraphyllin und Soluphyllin entsprechenden Präparaten, durchgeführte Untersuchungen hin. Diese fanden seines Wissens nur in der Patentliteratur einen Niederschlag. Wirkungsmäßig besitzen diese Theophyllinderivate interessante, nur zum Teil theophyllinähnliche Qualitäten. Es wäre jedoch falsch, die Wirkung dieser Abwandlungsprodukte einfach derjenigen des Theophyllins gleichzusetzen. Dies konnte auch in klinischen Untersuchungen gezeigt werden. Vielmehr besteht der Eindruck, daß die Theophyllinwirkung am besten von solchen Präparaten unverfälscht zum Ausdruck kommt, welche indifferente Lösungsvermittler, z. B. Mono-, Di- und Triäthanolamin, neben Theophyllin enthalten. Die neuen, in 7-Stellung substituierten Derivate weichen in mancher Hinsicht von dem eigentlichen Theophyllin ab.

Brock fragt Hauschild, unter welchen Bedingungen und Voraussetzungen sich die von ihm (1943) dargestellte antispasmodische Wirkung des Diäthylaminoäthanols am durch Tonephin spastisch verengten isolierten Kaninchenohr-Gefäßsystem nachweisen läßt. Trotz Verwendung verschiedener Tonephin-Chargen und -Konzentrationen war es ihm nicht möglich, auf diesem Wege einen eindeutigen Krampfzustand zu erzielen. Eine Klärung dieser Frage ist aber insofern von Interesse, als an diesem Test eindeutige Wirkungsunterschiede verschiedener Amine und Aminoalkohole dargetan wurden.

Antwort Hauschild: Die von Brock nicht gefundenen Gefäßspasmen nach Vasopressin und deren Lösung durch Diäthylaminoäthanol wurden seinerzeit durch

Injektion von Tonephin am isolierten Kaninchenohr regelmäßig erzeugt und durch die verschiedensten Aminoalkohole in geeigneter Dosierung im Sinne einer Spasmolyse gelöst.

Hildebrandt: Die Wirkung von Theophyllin wird durch Lösungsvermittler wie Äthylendiamin oder Diäthanolamin stärker modifiziert als durch Substitution, wie sie z. B. bei Oxäthyltheophyllin vorliegt. Die Gefäßwirkung ist etwas verändert, da z. B. die Gehirngefäße durch Oxäthyltheophyllin erweitert werden, während sie sich unter Theophyllin und Diäthanolamin etwas verengern, wie Versuche von Dörner in meinem Institut mit der Reinschen Stromuhr ergeben haben.

Muschaweck: Während bisher die Xanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin mit Lösungsvermittlern versetzt wurden, um eine erhöhte Löslichkeit zu erzeugen, können diese selbst als Lösungsvermittler wirken. Hier ist besonders Coffein zu erwähnen, das Flavonole, die normalerweise nur 1 : 3000 bis 1 : 10000 löslich sind, im Verhältnis 1 : 10 zu lösen vermag. Weniger geeignet sind hierbei Theophyllin und Theobromin. Als Beispiel dient hier Rutin (Quercetinrhamnoglukosid). Ähnlich verhält sich Natriumsalicylat, das Flavonole sogar in 15- und 20%ige Lösungen bringen kann.

Loeschcke: Wird ein Agens, z. B. ein Steroidhormon, mit Hilfe eines Lösungsvermittlers in den Organismus eingeführt, so ergibt sich die Frage, ob durch die Fixierung des Agens am Lösungsvermittler eine Verzögerung der Wirkung eintritt.

Neumann: Isopropylalkohol ist auch beim Menschen wirksamer als Äthylalkohol und führte einmal als Bestandteil eines Likörs zu einem pathologischen Rausch.

Heubner: Ein Unterschied zwischen normal- und iso-Propylalkohol besteht darin, daß der erstere bei Ratten Durst erzeugt, der letztere nicht. Erhöhte Permeabilität braucht wohl nicht notwendigerweise für die Capillarwand als Angriffspunkt zu sprechen, da auch Störungen der Oxydationsprozesse in den Geweben zu Gefäßdurchlässigkeit führt.

Loeser: Schlußwort.

E. Keeser (Hamburg): Methanolvergiftung.

Als Alkohol ist Methanol weniger giftig als die übrigen einwertigen Alkohole. Trotzdem wurde von einigen Autoren die Ursache der Giftigkeit des Methanols nur in seiner Alkoholeigenschaft erblickt. So führt Carla Egg (1927) aus, daß Methanol — übrigens ebenso wie Äthanol — Ferro-Ionen komplex bindet, so daß sie unfähig werden, Oxydationsvorgänge zu katalysieren. Indes blieb sie den Beweis dafür schuldig, daß es in vivo unter der Wirkung der genannten Alkohole zu einer Hemmung der Oxydationsprozesse kommt. Sie gibt selbst ein Beispiel dafür an, daß eine Maskierung der genannten Art nicht mit einer Hemmung der Katalysewirkungen gleichbedeutend sein muß, — und außerdem wird von ihr nicht berücksichtigt, daß Methanol neben seinen typischen Alkoholwirkungen noch ganz spezifische besitzt, die es mit keinem anderen Alkohol gemeinsam hat, wohl aber mit allen Methylverbindungen. Die spezifische Toxizität des Methanols muß also durch seine Eigenschaft als Methylverbindung bedingt sein.

Auch Samartino und Simon führten die Giftwirkung des Methanols auf das unveränderte Molekül zurück, das im Organismus komplizierte Veränderungen chemischer und physikalisch-chemischer Natur hervorrufe. Zu dieser Anschauung habe ich mit Alberty (1948) Stellung genommen und darauf hingewiesen, daß die von den genannten Autoren angestellten Versuche die Schlußfolgerungen nicht erlauben, die die Autoren aus ihnen ziehen, und daß aus den Versuchen von Simon selbst hervorgeht, daß die für Methanol typischen Veränderungen am Augenfundus erst 114 Std nach der Zufuhr auftreten. Nur die Annahme der sekundären Giftigkeit des Methanols erklärt die Latenzzeit von Stunden und Tagen bei Vergiftung. Heute besteht wohl Übereinstimmung darüber, daß Methanol der an sich relativ harmlose Träger derjenigen Giftstoffe ist, die im Stoffwechsel aus ihm entstehen.

Um die Entstehung dieser Oxydationsprodukte zu verhindern und so eine Entgiftung des Methanols zu erreichen, schlug Laubender die Verwendung von *Reduktionsmitteln* vor. Als solches verwendete er Natriumthiosulfat und beobachtete bei dessen prophylaktischer bzw. prophylaktischer und therapeutischer Anwendung eine Abnahme der Mortalität. Es dürfte sich lohnen, diese Versuche auf Dithiopropanol auszudehnen.

Da entsprechend der Traubeschen Regel die Oberflächenaktivität des Äthanols doppelt so groß ist wie die des Methanols, wurde von Asser sowie von Roe zur Behandlung der Methanolvergiftung Äthanol empfohlen in der Annahme, daß Äthanol die Adsorption des Methanols und demzufolge seine Oxydation verhindere. Asser fand in der Tat, daß die Ausscheidung von Ameisensäure geringer war, wenn Methanol zusammen mit Äthanol gegeben wurde. Da indessen Äthanol ebenso wie Methanol eine Acidose und auch andere, nur langsam abklingende Stoffwechselstörungen verursacht, und da sich außerdem die Alkoholwirkungen der beiden Alkohole addieren, erscheint mir dieses Verfahren nicht empfehlenswert, und Roe selbst empfiehlt es auch nur für den Fall, daß die von ihm empfohlene Alkalitherapie nicht durchgeführt werden kann.

Nachdem gefunden worden war, daß *Laevulose* eine Entgiftung des Äthanols bewirkt, lag es nahe zu prüfen, ob auch Methanol durch Laevulose entgiftet wird. Stuhlfauth u. Mitarb. fanden indessen, daß Laevulose die Giftigkeit des Methanols steigert — wahrscheinlich indem Laevulose die Oxydation des Methanols ebenso fördert wie die von Äthanol und so eine vermehrte Entstehung der Oxydationsprodukte des Methanols bewirkt.

Von diesen Oxydationsprodukten ist am längsten bekannt die *Ameisensäure*, in der von verschiedenen Autoren der eigentliche Träger der spezifischen Giftwirkungen des Methanols, auch der Acidose, erblickt wird. Roe fand indessen im Organismus von Methanolvergifteten so

wenig Formaldehyd, daß die hieraus entstehenden Mengen Ameisensäure die Acidose nicht erklären können. Sie werden durch die Alkalireserve unseres Körpers ohne weiteres in ameisensaure Salze übergeführt, die toxikologisch ebenso wie Acetate zu beurteilen sind.

Die starke *Acidose*, die pathologisch-physiologisch bei der Methanolvergiftung auftritt, beruht somit nicht auf der Entstehung von Ameisensäure. Vielmehr ist sie zurückzuführen auf eine Hypoxie, in der allein Roe die Ursache der Acidose erblickt. Roe fand bei der Methanolvergiftung eine Vermehrung von Milchsäure und anderen organischen Säuren, Hypergyklämie und Hyperurikämie, Symptome, wie sie von Saysas und Chormyak bei Hunden gefunden wurden, die unter Sauerstoffmangel atmeten oder durch CO vergiftet wurden. — Orthner stellt zur Diskussion, ob nicht eine Methylenierung der Aminosäuren, ähnlich wie bei dem allmählichen Sauerwerden der in Formol eingelegten Gehirne, eine Rolle bei der Entstehung der Acidose spielen könne. Mit Rücksicht auf die übrigen Stoffwechselstörungen, die bei der Methanolvergiftung gefunden werden und die zu einer Acidose führen, sowie mit Rücksicht auf die kleinen Mengen Methanol, die zu einer starken Acidose führen, dürfte die Methylenierung nur ein Teilfaktor der Acidoseentstehung sein.

Zweifellos ist die Bekämpfung der Acidose bei der Methanolvergiftung wichtig. Merritt u. Brown, Chew und andere geben 2stündlich 6 g $NaHCO_3$, bis der Urin $p_H = 7{,}5$ hat. Wurde zur Behebung der Ketonkörperbildung außerdem Traubenzucker verabfolgt, so waren die Erfolge noch besser. Das spezifische Agens für die charakteristischen Symptome der Methanolvergiftung sind indessen weder die Ameisensäure noch die Acidose, da durch Acidose ebensowenig wie durch Ameisensäure das spezifische Symptomenbild der Methanolvergiftung erzeugt werden kann. Flury und ich erblicken daher in dem intermediär aus Methanol entstehenden Formaldehyd den eigentlichen Träger der spezifischen Giftwirkung. Daß dieses reaktionsfähige Zellgift nicht, wie Rodenacker glaubt, toxikologisch bedeutungslos ist, konnten wir dadurch nachweisen, daß die Versuchstiere, die zusammen mit Methanol Ammoniumcarbonat und so die Möglichkeit erhielten, Formaldehyd in ungiftiges Hexamethylentetramin zu überführen, sich weitgehend gegen die spezifischen Giftwirkungen des Methanols geschützt erwiesen. Das universelle Zellgift Formaldehyd wird an den Stellen mit besonders starken chemischen Umsetzungen, den sogenannten Oxydationsorten, im Nervensystem, Gehirn, Sehnerv, Netzhaut, parenchymatösen Organen gebildet und entfaltet dort seine Wirkung.

Da *Aminoguanidin* die Oxydation von Formaldehyd in der Rattenleber beschleunigt, behandelte Lauder die Formaldehydvergiftung erfolgreich mit Aminoguanidin. Dagegen beobachtete er keine Wirkung bei der Methanolvergiftung. In letzterem Falle ging er indessen so vor, daß

er seinen Versuchstieren (Ratten) eine tödliche Dosis Methanol (10 mg/kg) verabfolgte und gleichzeitig einem Teil von ihnen 600 mg Aminoguanidin/kg. In beiden Fällen starben alle Tiere binnen 30 min. Diese Versuche sind somit nicht beweiskräftig; sie zeigen nur, daß Aminoguanidin nicht gegen die akute Wirkung des Methanols schützt. Aus diesem entsteht im Organismus der Träger der spezifischen Giftwirkung, Formaldehyd, nur sehr langsam. keinesfalls binnen ½ Std. Mit Rücksicht auf die positiven Ergebnisse bei der Behandlung der Formaldehydvergiftung dürfte sich daher empfehlen, die Wirkung von Aminoguanidin unter einwandfreien Bedingungen, d. h. bei der nicht akut zum Tode führenden Methanolvergiftung zu prüfen.

Auf Grund unserer Tierversuche schlug ich seinerzeit vor, die Methanolvergiftung mit Ammoniumcarbonat zu behandeln, weil es erstens der bei der Methanolvergiftung bestehenden Acidose entgegenwirkt und zweitens den intermediär entstehenden Formaldehyd in Hexamethylentetramin überführt, eine Therapie, die mit Rücksicht auf die schwere Oxydierbarkeit des Methanols und seine lange Verweildauer im Organismus mindestens 8 Tage durchgeführt werden sollte.

Weiter werden als Therapie vorgeschlagen Magenspülung, Schwitzprozeduren, Fieberbehandlung mit Pyrifer, Anregung der Diurese durch Kochsalzinfusionen, Kreislaufmittel wie Coffein und Strychnin sowie Kurzwellenbestrahlung zwecks Stoffwechselsteigerung und Entquellung der Gewebe. Von der Zufuhr von Vitamin B_1 und C sowie von der viel diskutierten Liquorpunktion wurden in neueren kritischen Arbeiten an einem großen Krankengut keine Erfolge beobachtet. Von der von mir empfohlenen Behandlung mit Ammoniumcarbonat sah Siegert keinen therapeutischen Erfolg, wenn sie erst 6 Tage nach der Giftzufuhr einsetzte. In weiteren 7 Fällen, die das Medikament ohne sonstige spezifische Behandlung erhielten, trat nach Siegert keine Sehstörung auf, obwohl eine beginnende Neuritis bei zwei schweren Intoxikationen nachgewiesen wurde. Bei einem Patienten, der gleichfalls eine sehr erhebliche Menge getrunken hatte, bestanden bei der Aufnahme bedrohliche Funktionsstörungen, die sich unter Ammoniumcarbonatbehandlung vollkommen zurückbildeten, obwohl sich bis zum 6. Behandlungstag der typische Befund einer Neuroretinitis entwickelte.

Diese therapeutischen Erfahrungen bedürfen noch einer Nachprüfung und Bestätigung an einem größeren Krankengut. Hierbei ist wichtig, daß die Erkrankten so früh wie möglich einer Behandlung zugeführt werden, die die Entgiftung des Methanols bzw. Formaldehyds im Organismus unter Berücksichtigung der langsamen Oxydation und Ausscheidung des Methanols zur Aufgabe hat.

H. Orthner (Göttingen): Methanolvergiftung.

Mit 1 Textabbildung.

Im Vordergrund des klinischen Bildes der „typischen" Methanolvergiftung steht ein überwiegend *peripherer Kreislaufkollaps*, der nach einer gewissen Latenzzeit einsetzt. Offenbar liegt ein allgemeines *Versagen* der hauptsächlich durch die Gefäßendothelien besorgten *Blutgewebeschranke* vor. *Im Gehirn* kann es zu einem ausgesprochenen *Ödem* kommen. Wahrscheinlich handelt es sich hierbei um ein *passives*, durch eine primäre Schrankenstörung bedingtes *Ödem*, nicht um ein aktives, als (entzündliche) Reaktion auf einen Gewebsschaden zu deutendes.

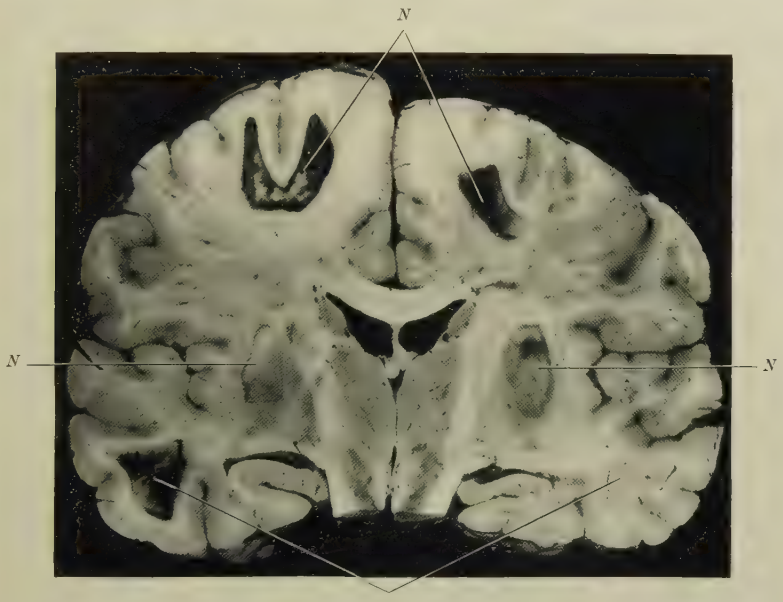


Abb. 1. Ödemnekrosen (*N*) in den großen Marklagern bzw. „Wasserscheidezonen" des Gehirns bei besonders lange (16½ Tage) überlebter Methanolvergiftung. Verkleinerung 0.6:1. (Ausführlich beschrieben in Virchows Archiv, **323**, 442 [1953].)

Prädilektionsstellen des passiven Ödems sind jene Hirngebiete, die hinsichtlich der venösen Drainage am ungünstigsten liegen. Da im Gehirn Lymphgefäße fehlen, muß die Aufsaugung von Extravasaten allein durch den venösen Schenkel des Blutkreislaufes erfolgen. Die Ödemprädilektion ist damit durch zwei Umstände bedingt: 1. So wie ein dicht drainierter Sumpf leichter trocken zu legen ist als ein mit wenigen Drainagegräben versehener, so werden Extravasate aus den reich vascularisierten grauen Gebieten des Gehirns leichter aufgesaugt als aus dem Mark mit seinem weniger dichten Gefäßnetz. Deshalb neigen die großen

Marklager zu Ödem. 2. Die von den großen Abflußvenen an der äußeren und inneren Oberfläche des Gehirns am weitesten entfernt liegenden Gebiete werden in Analogie zu dem Zentrum eines Sumpfes als „*Wasserscheidenzonen*" bezeichnet: Der venöse Sog wirkt hier am geringsten. Deshalb neigen die Wasserscheidenzonen zu Ödem.

Die in Fällen von besonders protrahiert verlaufener Methanolvergiftung gefundenen symmetrischen Nekrosen im Gehirn einschließlich der bekannten Putamennekrosen liegen in den Ödemprädilektionsstellen (Abb. 1). Man kann sie am ungezwungensten als Folge eines besonders lange liegengebliebenen Ödems deuten, das das Gewebe zur Erstickung gebracht hat, also als *totale Ödemnekrosen.*

Diskussion. Heubner fragt an, wie die verzögerte Ausscheidung der Ameisensäure nach Methylalkohol zu deuten ist.

Neumann: In Zusammenhang mit der Ameisensäurebildung aus Methanol wäre an die Möglichkeit zu denken, daß im Gewebe Derivate der Ameisensäure auftreten könnten, die toxischer wären als die entsprechenden Acetylverbindungen. Ester der Ameisensäure sind z. B. stets giftiger als die analogen Derivate der Essigsäure.

Von Roe und amerikanischen Beobachtern sind zur energischen Alkalibehandlung der Methanolvergiftung Infusionen und orale Gaben von Natr. bicarb. oder Natriumlactat empfohlen worden. Als einfache Leitregel für die Dosierung kann gelten, den Harn ständig leicht alkalisch zu halten.

Wirth weist auf Methylverbindungen hin, die unter geeigneten Bedingungen Methylalkohol abspalten, bei denen daher die Mythylalkohol-Wirkung ebenfalls im Vordergrund steht: Meist Ester, Dimethylsulfat u. a. Bis zu einem gewissen Grade scheint auch Glykolmonomethyläther hierher zu gehören, der nach eigenen Versuchen bei chronischer Einatmung histopathologisch nachweisbare Schädigungen im Hirn verursacht.

Kroneberg: Für die Rolle des Formaldehyds ist vielleicht von Bedeutung, daß dieser als starker unspezifischer Reiz wirkt („Stressor") und zu einer erheblichen Beanspruchung des HVL-NNR-Systems führt. Damit stände in Einklang, daß ein Teil der pathologisch-anatomischen Veränderungen, wie Capillarfragilität und Ödem, auch bei vielen anderen Vergiftungen und Kollapszuständen auftritt. Die „Gefäßkomponente" der Methanolvergiftung wäre dann nicht allein als eine gefäßtoxische Lokalwirkung des Formaldehyds aufzufassen, sondern als Bestandteil eines unspezifischen, vorwiegend vegetativ-nervös und hormonal gesteuerten Reaktionssyndroms, welches in erster Linie den Kreislauf und die Gefäße betrifft. Nach neuen amerikanischen Untersuchungen scheinen hierbei die Nebennieren insofern von Bedeutung zu sein, als sie für die normale Ansprechbarkeit der Endstrombahnelemente gegen Adrenalin und Arterenol sowie für die Vasomotion verantwortlich sind. Bei den adrenalektomierten Tieren ist die Gefäßperipherie nahezu tonuslos, die Capillarwände zeigen erhöhte Durchlässigkeit. Durch Nebennierenrindenextrakte kann dies verhindert werden.

Fleckenstein: Ein dominierendes Symptom der Methanolvergiftung ist die Acidose. Über ihr Entstehen ist bislang aber wenig bekannt. Falls Formaldehyd als Intermediärprodukt beim Methanolabbau der eigentliche Träger der Giftwirkung sein sollte, wäre das Auftreten einer Acidose nicht verwunderlich; denn nach eigenen Untersuchungen beeinträchtigt Formaldehyd noch in hoher Verdünnung den oxydativen Zellstoffwechsel. Formaldehyd greift dabei an den

Dehydrasen des Krebsschen Citronensäurezyklus an und gleicht hierin einer Reihe anderer schmerz- und entzündungserregender Zellgifte (Allylsenföl, Acrolein, halogenierte Augenreizstoffe). Auch die Capillarschädigungen und serös entzündlichen Veränderungen nach Methanolvergiftung wären als Formaldehydwirkungen gut erklärbar: Allylformiat als typisches Gift zur Erzeugung seröser Entzündung greift z. B. im Zellstoffwechsel ganz ähnlich wie Formaldehyd an (vgl. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 151 [1944]). Die bei Methanolvergiftung häufigen Oberbauchbeschwerden sind wahrscheinlich durch Acidose verursacht; denn beim Coma diabeticum werden identische Zustände beobachtet.

Lendle: Oberbauchschmerzen als frühes klinisches Symptom können vielleicht aus der Leberschwellung erklärt werden, nicht aber aus einer Formaldehydbildung und -wirkung auf den Darm. Gefäßschädigungen durch Methanol lassen sich auch am perfundierten Kaninchenohr gegenüber Adrenalin nachweisen.

Schaumann: Formaldehyd reagiert bei dem p_H der Körpersäfte auch in großer Verdünnung und trotz Anwesenheit von Aminosäuren und Eiweiß rasch spezifisch mit Adrenalin unter Bildung einer unwirksamen Verbindung. Vielleicht könnte dies bei der Methanolvergiftung auch mit eine Rolle spielen.

Oettel hält die gewerbetoxikologische Gefahr von Methanol für relativ gering, da bei der Inhalation das Blut nur sehr langsam gesättigt wird und die Hautresorption überhaupt fragwürdig ist. Nur bei grober Fahrlässigkeit können gewerbliche Vergiftungen zustande kommen. Das Gefährlichste am Methanol ist der ominöse Name „Methylalkohol", der zum Trinken verleitet. Auch in pharmakologischen Kreisen sollte grundsätzlich der Name Methylalkohol durch Methanol ersetzt werden, wie das bereits in der Berufsgenossenschaft der Chemischen Industrie geschieht.

v. Brücke fragt, ob es Dissesche oder Virchow-Robinsche Räume überhaupt gibt.

Schlußwort. Keeser: Die 296 Methanolvergiftungen, die 1945—1950 in Hamburger Krankenhäusern behandelt wurden, waren fast alle durch den Genuß von Methanol verursacht. Einige leichtere gewerbliche Vergiftungen beruhten auf Nichtbeachtung der bestehenden Schutzvorrichtungen und -vorschriften. Daß im Organismus aus Methanol Formaldehyd entsteht, wurde von mir nachgewiesen. Andere als anorganische Formiate wurden bisher bei der Methanolvergiftung nicht gefunden. Vom Äthanol werden 175 mg/kg/Std, vom Methanol nur 25 mg/kg/Std verbrannt. Ameisensäure entsteht daher wohl nur in kleinen Mengen, aber kontinuierlich. Ob ihre Ausscheidung nur langsam erfolgt, ist mir nicht bekannt. Jedenfalls erklärt die Menge der entstehenden Ameisensäure nicht die Stärke der bei der Methanolvergiftung auftretenden Acidose, zu deren Bekämpfung sehr große Mengen Alkali (z. B. alle 2 Std 6 g $NaHCO_3$) verabfolgt werden müssen. Diese Acidose ist somit offenbar nur ein Teilfaktor der durch Methanolvergiftung verursachten Stoffwechselstörung (Hypoxie), die nach den Ausführungen Heubners wohl auch die Ursache der für die Methanolvergiftung charakteristischen Gefäßwandschädigung ist.

Schlußwort. Orthner: Die Pathogenese des Permeabilitätsschadens ist aus dem morphologischen Befund nicht ohne weiteres ablesbar. Jedenfalls entsprechen die Veränderungen im Gehirn *nicht* den Befunden bei allgemeinem Sauerstoffmangel. — Es soll nicht behauptet werden, daß die Noxe nur an den Gefäßendothelien angreift; vielmehr dürfte sie überall, wo sie auftritt, die Lebensvorgänge stören, vermutlich an Orten mit normalerweise lebhaftem Stoffwechsel am stärksten. — Die Veränderungen erscheinen als Typus des allgemeinen toxischen Hirnödems mit seinen extremen, bei Ödemen anderer Ätiologie bisher nicht gesehenen Folgen, den totalen Ödemnekrosen.

F. v. Brücke (Wien): Über den Wirkungsmechanismus peripher muskellähmender Stoffe.

Ein kurzes Referat über die neuere Entwicklung unserer Kenntnisse vom Wirkungsmechanismus sogenannter „curareartiger" Stoffe kann weder auf die historische Entwicklung[1] des Gebietes noch auf die Systematik der Chemie aller bekannten Stoffe mit derartiger Wirkung[2] eingehen. Auch solche Nebenwirkungen, wie etwa die zentral erregende Eigenschaft des d-Tubocurarins oder die Freisetzung von Histamin können nur gestreift werden, während wir die ganglionären Wirkungen wegen der pharmakologischen Ähnlichkeit von autonomen Synapsen mit dem Endplattenapparat kurz besprechen werden.

Wie W. Feldberg[3] vor zwei Jahren hier ausgeführt hat, wird heute angenommen, daß mit jeder Erregungswelle im motorischen Nerven ein gewisses Quantum von Acetylcholin und anderen „Aktionsstoffen" an der Endplatte freigesetzt wird, das dort den Erregungsvorgang einleitet: Diese ist etwa 1000mal empfindlicher gegen Acetylcholin (Ach) als die Muskelfaser selbst. Es besteht in Analogie zur Nervenfaser die Vorstellung, daß dieser Erregungsvorgang in einer Veränderung der Permeabilität der Endplattenregion für Natrium-Ionen besteht, deren Eintritt zugleich mit dem Austritt von Kalium-Ionen eine Umladung der Endplattenmembran herbeiführt. B. Katz u. P. Fatt[4] entwickelten die Vorstellung, daß entweder das Eindringen von Ach selbst den Vorgang, der nicht ganz richtig als Depolarisation bezeichnet wird, bewirkt, oder daß es chemische Vorgänge auslöst, die diese Folge haben. Die erste Möglichkeit wird wegen der zu geringen vorhandenen Ach-Mengen abgelehnt. Jedenfalls muß der Ionenvorgang rasch wieder rückgängig gemacht werden, um die Erregbarkeit der Muskelfaser für die nachfolgenden Impulse wieder herzustellen. Dies geschieht durch eine Zerstörung des Ach durch echte Cholinesterase: Sie ist im muskulären Anteil der Endplatte angereichert und kann dort, wie Couteaux[5] gezeigt hat, auch histochemisch mit Janusgrün nachgewiesen werden. Janusgrün geht mit dem Ferment eine Verbindung ein und wirkt daher als Anticholinesterase. Der Beweis dafür, daß in den Bildern von Couteaux tatsächlich Cholinesterase dargestellt wurde, kann mit der von G. Koelle[6] entwickelten Methode geführt werden: Hierbei wird durch die Spaltung von Acethylthiocholin im Gewebe Schwefel freigesetzt, der mit Schwermetallen nachgewiesen werden kann. Bleibt Ach in zu großer Konzentration an der Endplattenregion, dann kommt es zu einer Unterbrechung der Erregungsübertragung. Durch Anticholinesterasen wird die Wirkungsdauer und die Konzentration des Ach an der Endplatte so erhöht, daß die Menge an ausgetauschten Ionen gegenüber dem Normalzustand etwa 50fach anwächst[4].

Dieser Ionenaustausch findet im Endplattenpotential (EPP) seinen Ausdruck. Gewöhnlich ist dieses EPP von dem viel größeren Potential der erregten Muskelfaser überdeckt, kann aber, wie Schäfer u. Haass[7] zeigten, schon bei der Ermüdung durch Verlängerung der Latenz der Muskelfaser zutage treten. Eccles, Katz u. Kuffler[8] haben zunächst den zeitlichen Ablauf und die Höhe des EPP näher untersucht und Katz hat durch Einstechen von Mikroelektroden in die Endplattenregion der isolierten Froschmuskelfaser das Potential und seine Ausbreitung über die Oberfläche der Muskelfaser genau bestimmt.

Aus dieser sehr gedrängten Übersicht über die Physiologie der Endplattenregion geht hervor, daß eine Lähmung der Erregungsübertragung vom Nerven auf den Muskel, wie Paton[9] darlegt, prinzipiell auf dreierlei Weise erfolgen kann:

1. kann das bei Erregung freigesetzte Ach-Quantum geringer und damit unterschwellig werden. Dies ist z. B. unter der Einwirkung von Novocain, wie Harvey[10] zeigte, der Fall. Jaco u. Wood[11] zeigten, daß die Zunahme der Kontraktionshöhe eines indirekt gereizten Muskels unter Prostigmin durch kleine Novocaindosen, die noch nicht lähmend wirken, verhindert werden kann. Prostigmin selbst verwandelt eine Einzelzuckung in einen kurzen Tetanus[12]. Ähnlich wie Novocain wirkt offenbar auch Calciummangel, wie Harvey u. MacIntosh[13] am Cervicalganglion und Brücke u. Werner[14] auch am Froschherz gezeigt haben. Für Botulinustoxin wird ein ähnlicher Mechanismus wie für Novocain angenommen[15].

2. kann durch chemische Stoffe der Ionenvorgang der Depolarisation trotz Vorhandensein einer entsprechenden Menge von Ach verhindert werden. Dies ist, wenn man solche Bezeichnungen überhaupt beibehalten will, das, was man als „curareartige" Wirkung bezeichnen sollte.

3. kann durch Stoffe, welche ähnlich wie Ach an der Endplatte depolarisierend wirken, eine Lähmung verursacht werden, wenn sie die Restitution des Membranpotentials verhindern. Der Lähmung geht eine dem initialen Depolarisationsvorgang entsprechende kurzdauernde Muskelerregung in Form einer Kontraktion voraus. Diese Lähmung ist prinzipiell ähnlich wie die durch Ach bei Anwesenheit von Anticholinesterasen bewirkte. Es soll aber betont werden, daß die initial erregende und die später lähmende Wirkung bei den verschiedenen Stoffen durchaus nicht parallel gehen müssen[16], was wahrscheinlich mit Unterschieden im zeitlichen Ablauf der Depolarisation zusammenhängt.

Die beiden zuletzt genannten Typen der curareartigen und der depolarisierenden Stoffe sind Extremfälle, zwischen denen es Übergänge gibt. Es kommt nämlich vor, daß nach einer anfänglichen teilweisen Depolarisation die Membran für weitere depolarisierende Einflüsse unzugänglich wird.

Zur Gruppe der „curareartigen" Stoffe gehören außer dem am ausführlichsten untersuchten d-Tubocurarin die rein dargestellten Toxiferine[18], der Dimethyläther von d-Tubocurarin[19], ferner besonders der Triäthylaminoäthanoläther des Pyrogallols (Flaxedil = 2559 F. 3697 RP)[20], dann die Erythrinaalkaloide[21], vielleicht aber auch Äther und Barbiturate[22], die die Wirkung von Curare deutlich verstärken. (Im Elektromyogramm allerdings sind Unterschiede zwischen der Wirkung von Äther und Curare nachweisbar[23], siehe auch[30].

d-Tubocurarin lähmt die Endplattenregion von Wirbeltieren ohne jede anfängliche Erregung, sofern der Muskel normal innerviert war. Bei denerviertem Muskel kommt es allerdings zu fibrillären Zuckungen, bevor die Unerregbarkeit gegenüber Ach eintritt und mit hohen Dosen auch zu einer Muskelkontraktur[24, 25]. Unter entsprechenden Bedingungen sind also selbst bei d-Tubocurarin noch erregende Wirkungen nachzuweisen. Riker u. Wescoe[26] zeigten neuerdings, daß auch Flaxedil erregende Wirkungen — wenn auch in geringem Ausmaße — besitzt.

Die direkte elektrische Erregbarkeit der Muskelfaser wird durch d-Tubocurarin für mittlere Reizfrequenzen nicht wesentlich verändert. bei direkter Reizung mit Impulsen hoher Frequenz allerdings ist eine Herabsetzung der Kontraktilität unter der Einwirkung von d-TC gezeigt worden[27]. Unter der Einwirkung von kleinen Curaredosen tritt als kleine initiale Erhebung das EPP aus dem Komplex des Muskelaktionspotentials hervor, weil die Latenz zwischen der Erregung der Endplatte und der Muskelfaser selbst verlängert wird[28]. Die Latenz des EPP an sich ist dabei ungeändert. Das EPP wird unter der Einwirkung von d-TC zeitlich und in seiner Höhe immer mehr reduziert, und wenn es auf etwa ein Drittel seiner Höhe abgesunken ist, kann es keine fortgeleitete Muskelzuckung mehr auslösen. Sowohl diese Endplattenwirkung von d-TC als auch die ihr entsprechende Lähmung der indirekten Erregbarkeit ist in einem gewissen Bereich durch Anticholinesterasen aufzuheben. Ebenso wirkt Ach als Antagonist der curareartigen Substanzen. Dies sieht man besonders bei naher arterieller Injektion geeigneter Ach-Dosen am teilweise curarisierten Katzenmuskel[29]. Aus dem gleichen Grunde können auch kurze Tetani decurarisieren.

Eine andere Möglichkeit einer Anticurarewirkung zeigten kürzlich Hutter u. Pascoe[21] mit dem ebenfalls depolarisierenden Decamethonium: Durch sekundäre partielle Depolarisation der Muskelfaser kann diese gegen das durch Curare erniedrigte EPP so empfindlich werden, daß wieder eine fortgeleitete Muskelkontraktion auftritt.

Der erstgenannte Antagonismus von Ach gegen d-TC ist kompetitiv und spielt sich an der Endplatte ab, der zuletzt besprochene Mechanismus ist nicht kompetitiv und spielt sich offenbar an der Muskelfaser selbst ab.

Allerdings haben Anticholinesterasen und damit auch Acetylcholin nur eine beschränkte kompetitive Anticurarewirkung in bezug auf die indirekte Erregbarkeit des Muskels: Trevan[32] hebt mit Recht hervor, daß die Wirkung größerer Curaredosen nicht mehr durch Hemmkörper der Cholinesterasen aufgehoben werden kann.

Große Aufmerksamkeit hat in letzter Zeit der Antagonismus eines Prostigminderivates (3-hydroxy-phenyl-dimethyl-äthyl-ammonium-chlorid, Ro 2-3198, Tensilon) gegen Curare gefunden[33]. Dieser Stoff ist in vitro ein sehr schwacher Hemmkörper der Cholinesterase, hebt aber im Tierversuch die Wirkungen von d-Tubocurarin sogar rascher und vollständiger auf als Prostigmin. Da die Substanz selbst erregende Wirkungen auf Muskel- und Ganglienzellen hat, wurde diese an Stelle der Anticholinesterasewirkung als Erklärung für den Antagonismus herangezogen[34]. Die Frage ist jedoch keineswegs geklärt, weil F. Hobbiger[35] kürzlich fand, daß Tensilon nicht mehr curareantagonistisch wirkt, wenn die echte Cholinesterase des Muskels völlig durch Tetraäthylpyrophosphat inaktiviert wurde. Einfache Phenole[48] hingegen behalten ihre Anticurarewirkung auch nach dieser Vorbehandlung des Muskels bei[35]. Sicher nicht durch die Anticholinesterasewirkung ist der Antagonismus von Tetraäthylammoniumbromid gegen Curare bedingt, den Kensler entdeckt hat[36]. Die echte Cholinesterase wird nämlich durch größere Konzentrationen von TEA aktiviert[37]. Hier scheint es sich vielmehr um eine Verdrängung einer wirksamen quartären Ammoniumbase durch eine neuromuskulär unwirksame zu handeln. Kolloidale Farbstoffe vom Typus des Kongorotes gehen mit d-Tubocurarin inaktive Komplexverbindungen ein und bewirken dadurch einen Curareantagonismus[38, 39].

Ohne auf den intermediären Stoffwechsel des d-Tubocurarins näher einzugehen, seien Befunde von Marsh[40] mit radioaktivem o-Methyltubocurarin erwähnt: Das Material verschwindet in 120 sec zu etwa 90% aus dem Blut, wird schon im Verlaufe von 15 min zu etwa 10% unverändert im Harn ausgeschieden; ein Teil des Materials bleibt aber interessanterweise im Muskel noch nachweisbar, wenn die Lähmung schon lange abgeklungen ist. Marsh meint daher, daß es bei der Wirkung auf das Auftreten eines Konzentrationsgradienten am Wirkungsort ankomme.

Zur Gruppe der aktiv depolarisierenden Stoffe gehören neben dem zuerst von Barlow u. Ing[41] synthetisierten und von diesen Autoren ebenso wie von Paton u. Zaimis[42] untersuchten Decamethonium (C 10) vor allem Cholinester von aliphatischen Dicarbonsäuren, wie sie zuerst von Bovet et al.[43] dargestellt und untersucht wurden, außerdem auch Nicotin[44] und natürlich Acetylcholin. Es ist historisch interessant, daß schon 1902 M. Henze[45] an isolierten Froschmuskeln den Einfluß verschiedener Alkaloide, darunter auch von Nicotin, auf das Ruhepotential gemessen hat und ihre depolarisierende Wirkung beschreibt. Diese

Untersuchungen wurden von Höber[46] erweitert, der besonders quartäre Ammoniumbasen in seine Untersuchungen mit einbezog und schon klar aussprach, daß es bei der Wirkung auf den stark basischen, kationischen Anteil des Moleküls ankomme und daß die Senkung des Ruhepotentials mit einer Verminderung der direkten Erregbarkeit einhergeht. Es sei auch erwähnt, daß fast zur gleichen Zeit Willstätter u. Heubner[47] die dem Decamtehonium homologe bis — quartäre Ammoniumbase mit 4 Methylengruppen beschrieben und ihre lähmende Wirkung auf die Muskulatur erkannt haben.

Für Decamethonium ist die depolarisierende Wirkung zuerst von Brown, Paton u. Vianna Dias[49] beschrieben worden. Alle derartigen Stoffe wirken, wie oben ausgeführt, zunächst erregend auf die Endplatte, so daß es bei naher arterieller Injektion zu einem kurzen Tetanus kommt. Dieser ist besonders gut am M. soleus der Katze zu sehen[50]. Bei intravenöser Injektion sieht man gewöhnlich starkes Fasciculieren. Fasciculäre Muskelzuckungen werden auch mit Anticholinesterasen beobachtet und in diesem Falle auf die Wirkung von persistierendem Ach zurückgeführt. Die erregenden Wirkungen der depolarisierenden Stoffe gehen jedoch ihren lähmenden Wirkungen keineswegs parallel: so konnten Ginzel, Klupp u. Werner[16] an einer homologen Reihe von Bis-Cholinestern nachweisen, daß das stark lähmende Succinyl-bis-Cholin nur sehr geringe erregende Wirkung hat; andererseits ist das Maximum der nicotinartig erregenden Wirkungen beim bis-Cholinester der Sebacinsäure gelegen, der nur sehr schwach muskellähmend wirkt. Am denervierten Säugetiermuskel sowie bei gewissen Muskeln von Anuren, Reptilien und Vögeln bewirken diese Stoffe eine aktionsstromlose Kontraktur. Diese Wirkungen sind von Langley für Nicotin[51], von Frank, Nothmann u. Hirsch-Kauffmann für Ach[52], von Bovet an Sperlingen für Succinylcholin[53] und von Buttle u. Zaimis[54] für Dekamethonium beschrieben worden. Am Taubenmuskel fanden Ginzel, Klupp u. Werner[55, 56] bei Homologen des Succinylcholins, daß die Kontrakturwirkung der lähmenden Wirkung am Säugetiermuskel parallel geht, während die Kontraktur des Froschmuskels mit der nicotinartig *erregenden* Wirkung an Warmblütermuskeln und vegetativen Ganglienzellen parallel geht. Dennoch zeigt auch die Kontraktur an der Taube eine gemeinsame Eigenschaft mit der Kontraktur durch „Katelektrotonika" (Fleckenstein[78, 79, 80]) am Froschrectus: es ist nämlich möglich, auch diese durch anodische Polarisation des Muskels zu lösen bzw. zu verhindern; andererseits bewirkt katelektrotonische Durchströmung auch am Taubenmuskel eine Kontraktur[59].

Die Depolarisation am Warmblütermuskel beginnt, wie Burns u. Paton[57] am musc. gracilis der Katze zeigen, in der Gegend der Endplatte und greift von hier aus, zeitlich und örtlich sich ausbreitend, auf die

angrenzenden Teile der Muskelfaser selbst über. Diese wird demnach nur teilweise von der Depolarisation erfaßt und entlädt sich durch das Gebiet erhöhter Ionenpermeabilität an der Endplatte. Hierbei braucht ein direkter Angriffspunkt des C 10 an der Muskelfaser selbst nicht angenommen zu werden. Das Ausmaß der Depolarisation nimmt deshalb beim Abgreifen von endplattenfernen Muskelteilen ab. Ähnlich wie Fatt[58] haben am isolierten musc. ileofibularis des Frosches Ginzel, Klupp u. Werner[59] für die bis-Cholinester die Depolarisation nachgewiesen. Es ist nach dem Gesagten verständlich, wenn auch durch ganz andere Umstände bedingt, daß das EPP durch Decamethonium ebenso erniedrigt wird wie unter Curare[60].

Eine direkte Erregung der Muskelfaser, die an einem Ende gesetzt wird, kann demnach über die depolarisierende Stelle nicht fortgeleitet werden und erreicht nicht das andere Ende[57]. Daher nimmt, wie ebenfalls Ginzel, Klupp u. Werner[55] zeigten, am Warmblütermuskel der mechanische Effekt einer direkten Reizung ab, wird jedoch auch bei höheren Dosen nicht vollständig aufgehoben. Für den Vogelmuskel sind die entsprechenden genauen Untersuchungen an der Endplattengegend noch ausständig, doch setzt sich der Effekt einer direkten Reizung der Kontraktur derart fort, daß die Gesamtverkürzung gleichbleibt wie am unvergifteten Muskel. Das gleiche zeigte Brown schon vor längerer Zeit für die Ach-Kontraktur am musc. gastrocnemius des Frosches[61].

Auf die anfängliche Erregung der Endplatte (mit entsprechend fortgeleiteten Aktionsströmen) folgt eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit, die im Mechanogramm der indirekten Erregbarkeit am Säugetiermuskel von einer Lähmung durch Curare nicht zu unterscheiden ist.

Wegen des entgegengesetzten Wirkungsmechanismus können nun alle erregenden Wirkungen der depolarisierenden Stoffe durch d-Tubocurarin und wirkungsmäßig analoge Verbindungen verhindert werden: So wird zunächst die Zuckung bei naher arterieller Injektion verhindert bzw. verringert und ebenso werden sämtliche Kontrakturwirkungen an den verschiedenen besprochenen Muskeln herabgesetzt (ausgenommen ist lediglich die Kontraktur durch K-Ionen). Auch lähmende Wirkungen depolarisierender Stoffe können durch curareartig wirkende aufgehoben werden: So hat schon vor längerer Zeit Grace Briscoe[29] gezeigt, daß die lähmende Wirkung großer Acetylcholindosen (1,0 mg) auf kurze Tetani am M. gastrocnemius der Katze durch vorherige Gabe von Curare aufgehoben wird. Unter diesen Umständen wirkt dann 1,0 mg Ach ähnlich wie eine Dosis von nur 100 μg von Curare, d. h. Ach hat jetzt nur eine fördernde Wirkung auf das Mechanogramm eines kurzen Tetanus. Jarcho et al.[60] haben gezeigt, daß nach einer Curaregabe der M. gracilis der Ratte auf längere Zeit nicht mehr durch Dekamethonium depolarisiert wird. Diese Wirkung des Curare hält auffallenderweise wesentlich länger

an als die Lähmung der indirekten Erregbarkeit. Ginzel, Klupp u. Werner[55] bestätigen diesen Befund für die Katze und zeigen weiter, daß sowohl die erregende Wirkung arteriell injizierter Dosen von Dekamethonium (bzw. Bischolinestern) als auch deren lähmende Wirkung nach Ablauf der Lähmung durch d-Tubocurarin aufgehoben bzw. abgeschwächt ist. Jarcho et al. ebenso wie die genannten Autoren erwägen einen unabhängigen zweiten Angriffspunkt des d-Tubocurarins an der Muskelfaser selbst. Ein dem Curareantagonismus wahrscheinlich verwandtes Phänomen ist die (übrigens praktisch wenig verwertbare) Aufhebung der Dekamethoniumwirkung durch Pentamethonium[42], da Paton u. Perry[62] nachgewiesen haben, daß am Ganglion dieser Stoff hemmend auf die Depolarisation wirkt.

Durch Antagonisten der Cholinesterasen wird dagegen die lähmende Wirkung der depolarisierenden Stoffe naturgemäß nicht aufgehoben. Soweit es sich bei diesen um Cholinester handelt, kann die Wirkung sogar erheblich verstärkt werden[43, 63]. In geringem Ausmaße gilt dies übrigens auch für Dekamethonium selbst[60], das zwar nicht gespalten werden kann, aber offenbar etwas an die Cholinesterasen gebunden wird. Auch Tensilon wirkt nicht antagonistisch. Es sei bemerkt, daß Calcium-Ionen, die bekanntlich eine schwache Anticurarewirkung ausüben, die depolarisierenden Stoffe gelegentlich recht deutlich antagonisieren[64].

Was nun die Übergangsformen zwischen depolarisierenden und curareartigen Körpern anbelangt, so zeigt, wie schon erwähnt wurde, d-Tubocurarin selbst am denervierten Säugetiermuskel Erscheinungen, die z. B. Jarcho[25] für depolarisierende Wirkungen hält: es tritt nämlich zunächst eine Verstärkung der fasciculären Zuckungen auf, bei entsprechenden Dosen kommt es sogar zur Kontraktur. Ginzel, Klupp u. Werner[55] verwendeten zur Beurteilung der Wirkungsweise verschiedener muskellähmender Stoffe das Mechanogramm des M. gastrocnemius der Taube: Sie fanden, daß bei aliphatischen bis-quartären Verbindungen durch Ersatz von N-methyl- durch N-äthyl-Gruppen der Wirkungstyp verändert wird. So riefen z. B. in der Reihe der bis-Cholinester die Triäthylabkömmlinge keine Kontraktur mehr an diesem Präparat hervor, lähmten aber genau so wie d-Tubocurarin die indirekte Erregbarkeit. Bei Dekamathonium und bei Succinyl-bis-Cholin hatte auch das Diäthylderivat schon diese Wirkung. Beim Adipinsäure-bis-Cholin stellte dagegen das bis-Diäthylderivat eine interessante Übergangsform dar: kleine Dosen verursachten wohl noch eine Kontraktur, lähmten aber gleichzeitig die indirekte Erregbarkeit. Nach großen Dosen war die Kontraktur eher geringer, die „curareartig" lähmende Wirkung trat dagegen stärker hervor. Die Monoäthylderivate wirken noch durchweg, wenn auch abgeschwächt, kontrakturauslösend. Elektrische Messungen an Katzen und Froschmuskel bestätigen diesen Übergang, ähnlich wie dies

bereits Paton[65] für das von Dallemagne untersuchte monoquartäre Derivat des Decyltrimethylammoniums nachwies. Neuerdings hat O. Randall[66] zwei Arbeiten veröffentlicht, in denen er die Umwandlung depolarisierender Stoffe, deren Wirksamkeit durch Tensilon nicht aufgehoben wird, in Stoffe mit Tensilon-aufhebbarer Wirkung beschreibt. Im wesentlichen zeigt es sich, daß der Ersatz je einer Methylgruppe an den quartären N-Atomen von Succinylcholin, Dekamethonium und Mytolon (2,5-bis-3-diäthylaminopropylamino-benzochinon-bis-benzylchlorid, WIN 2747)[76] durch p-Nitrobenzylgruppen genügt, um den erwähnten Effekt zu erreichen. Nach den Randallschen Kriterien müßte man demnach hier von „curareartigen" neuen Stoffen sprechen. Wir möchten jedoch prinzipiell von der Verwendung von Gruppenbezeichnungen wie „curareartig", „atropinartig", „nicotinartig" u. ä. abraten, obwohl sie sich oft als praktisch brauchbar erweisen, weil sich das Wirkungsbild doch in Einzelheiten nie völlig deckt. So zeigt es sich z. B., daß die von Ginzel, Klupp u. Werner untersuchten „curareartig" wirkenden aliphatischen bis-quartären Verbindungen nicht durch Antagonisten der Cholinesterase und auch nicht durch Dekamethonium beeinflußt werden, was ja geradezu ein Kriterium für die namengebende Substanz dieser Gruppe darstellt. Außerdem zeigte sich bei einigen der von meinen Mitarbeitern untersuchten Substanzen, daß ein und dieselbe Verbindung bei *einer* Tierspezies dekamethoniumartige, bei einer anderen hingegen „curareartige" Wirkungen zeigen kann.

Auch Verbindungen aus der Gruppe der Sulfonium-, Arsonium- und besonders der Phosphoniumverbindungen haben muskellähmende Wirkungen[67]. Während die beiden ersten Gruppen wenig untersucht sind, haben meine Mitarbeiter in der letzten Zeit eine Reihe von Diphosphoniumbasen untersucht, die uns von der Firma Thomae überlassen wurden. Es handelt sich dabei zunächst um die dem Dekamethonium entsprechende di-Phosphoniumverbindung (Q 152), die an den meisten Testobjekten schwächer lähmend wirkt als Dekamethonium selbst, aber ebenso wie dieses an der Taube die charakteristischen Eigenschaften der depolarisierenden Substanzen aufweist. Die entsprechenden bis-Triäthyl- und auch die bis-Triphenylverbindungen mit derselben oder mit kürzerer Kohlenstoffkette zwischen den Phosphoratomen (4—10 Methylengruppen) wirken dagegen „curareartig", werden aber ebenso wie die früher erwähnten bis-Triäthyl-Ammoniumverbindungen weder durch Eserin, Prostigmin noch durch Dekamethonium antagonistisch beeinflußt[68]. Das gleiche gilt auch für die entsprechenden bis-Triphenylverbindungen.

Besonderes Interesse beansprucht die dem Q 152 entsprechende Triphenylverbindung: dieser Körper wirkt an Katzenmuskeln, am isolierten Zwerchfell der Ratte und an Taubenmuskeln etwa 5—20mal schwächer lähmend als d-TC, hat dagegen merkwürdigerweise am M. rectus abdominis

des Frosches eine etwa 100fach stärkere antagonistische Wirkung gegenüber der Ach-Kontraktur. Die Lähmung ist kurzdauernd, etwa wie bei den bis-Cholinestern, aber am Taubenmuskel zeigt sich noch im Verlaufe von 1—2 Std nach Ende der Lähmung der indirekten Erregbarkeit eine eigenartige, bisher noch bei keinem Körper beobachtete Nachwirkung: injiziert man nämlich in dieser Periode Dekamethonium, so kommt es auch nach hohen Dosen zu keiner bzw. nur zu einer sehr abgeschwächten Kontraktur; für die Dauer, während der normalerweise die Kontraktur besteht, wird dagegen die indirekte Erregbarkeit gelähmt. Etwas Ähnliches sieht man auch, wenn auch weniger ausgeprägt, nach Injektion von kontrakturauslösenden bis-Cholinestern. Die sonst depolarisierenden Stoffe zeigen demnach nach Vorbereitung mit der erwähnten Phosphoniumbase ein Verhalten am Taubenmuskel, das sonst nur „curareartigen" Stoffen zukommt. Am Froschmuskel wirkt die eben besprochene Verbindung depolarisationshemmend. An der Katze ist bemerkenswert, daß die genannte Substanz die Dekamethoniumwirkung nicht abschwächt, sondern sogar verstärkt[68]. Wir haben also hier den Fall vor uns, daß nicht nur durch chemische Veränderung im Molekül einer depolarisierenden Substanz selbst die Wirkungsweise verändert wird, sondern daß dies schon durch Vorbehandlung der Receptoren an der Muskelfaser bewirkt werden kann. Ach ruft, wenn es nach Ende der Lähmung durch diese bis-Triphenylphosphoniumverbindung injiziert wird, wohl eine nunmehr abgeschwächte Kontraktur hervor, es kommt jedoch nie zur Lähmung der indirekten Erregbarkeit.

Es wäre nun noch kurz auf die Reihenfolge in der Lähmung verschiedener Muskelgruppen unter Curare und den depolarisierenden Stoffen einzugehen. Zuerst werden von den Substanzen beider Gruppen gewöhnlich die äußeren Augenmuskeln, die mimische Gesichtsmuskulatur und die Nackenmuskulatur gelähmt. Dazu ist zu bemerken, daß schon Brown[69] ein abweichendes Verhalten der äußeren Augenmuskeln gegenüber Acetylcholin gefunden hat: diese Muskel haben nämlich in normal innerviertem Zustand als einzige Säugetiermuskel die Fähigkeit, eine Kontraktur zu entwickeln. Übrigens ist die genannte Reihenfolge bei den verschiedenen muskellähmenden Stoffen durchaus nicht obligat. Marsh[70] ebenso wie meine Mitarb.[71] haben in der letzten Zeit gewisse bis-Cholinäther (z. B. des Butandiols) untersucht, bei denen gerade die Kopfmuskulatur relativ lange ausgespart bleibt (Versuche an nicht narkotisierten Hunden). Am nicht narkotisierten Menschen findet Unna[72], daß unter Curare die Atemmuskulatur länger funktionstüchtig bleibt als unter Dekamethonium. Dagegen können wir für Katzen in Chloralosenarkose den Befund von Paton[30] bestätigen, wonach die Atemlähmung unter Curare frühzeitiger einsetzt als unter C 10. Es mag erwähnt werden, daß in der französischen Literatur gewöhnlich drei Stadien der

Curarewirkung beschrieben werden[73]: 1. die Lähmung nach Bremer; dieser Autor fand, daß beim gekreuzten Extensorreflex die tonische Nachphase früher durch Curare ausgeschaltet wird als die schnelle Anfangszuckung[74]. 2. die Lähmung nach Vulpian, bei der Willkür- und Reflexmotorik bereits ausgeschaltet ist, während der Muskel für indirekte Einzelreize noch erregbar ist. Schließlich 3. die Lähmung nach Claude Bernard mit völliger Ausschaltung der indirekten Erregbarkeit. Es ist allerdings nicht bekannt, wie weit diese Reihenfolge auch für die „depolarisierenden" Stoffe gilt.

Es sei in diesem Zusammenhang auf eine merkwürdige Beobachtung meiner Mitarbeiter am Patellarsehnenreflex der Katze aufmerksam gemacht[75]: Dieser Reflex wird von Dekamethonium in Dosen für lange Zeit ausgelöscht, die weder die Atmung noch die Erregbarkeit des Muskels für Einzelreize und kurze Tetani herabsetzen. Die Wirkung ist jedoch nicht wie bei Nicotin[77] oder Ach eine auf das Rückenmark gerichtete, sondern greift am Muskel selbst an und betrifft nur den genannten Reflex, aber nicht den ipsilateralen Beugereflex oder den gekreuzten Extensorreflex. Das Phänomen zeigt sich also nur dort, wo Dehnungsreceptoren zur Auslösung des Reflexes erregt werden müssen und ist daher möglicherweise auf eine frühzeitige Lähmung des Spindelapparates zu beziehen. Die Erscheinung ist bisher nur mit Dekamethonium bzw. mit den oben genannten bis-Cholinäthern nachweisbar gewesen.

Viele der hier angeführten Beobachtungen über die Wirkungsweise neuromuskulär lähmender Stoffe zeigen, daß es durchaus nicht möglich ist, scharf voneinander abgegrenzte Typen von muskellähmenden Stoffen zu unterscheiden; es hängt dabei z. B. oft schon von dem verwendeten Testobjekt ab, ob eine Substanz Wirkungen nach Art des d-Tubocurarins oder des Dekamethionums zeigt. Je vielfältiger die Untersuchungsmethoden sind, die zur Anwendung gelangen, und je größer die Zahl der eingehender untersuchten muskellähmenden Stoffe wird, desto zahlreicher werden die Beispiele, die diese Auffassung rechtfertigen. Von besonderem Interesse ist dabei die Frage nach dem genaueren Wirkungsort der Substanzen, d. h. inwieweit ihre Wirkung durch eine Beeinflussung der Funktion der Endplatte bzw. der Muskelfaser selbst zustande kommt. Es wird damit allerdings ein Gebiet angeschnitten, auf dem wohl nur subtile elektrophysiologische Methoden weiteren Fortschritt bringen werden.

Literatur.

[1] McIntyre, A. R.: Curare. The University of Chicago Press, 1947. — [2] Bovet, D.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 407 (1951). — Graig, G. E.: Chem. Rev. **42**, 285 (1948). — [3] Feldberg, W.: Verh. dtsch. pharmak. Ges., 17. Tgg., p. 64, 1950. — [4] Fatt, P., and B. Katz: J. of Physiol. **115**, 320 (1951). — [5] Couteaux, R.: Rev. Canad. Biol. **6**, 563 (1947). — [6] Koelle, G. B.: J. of Pharmacol. **100**, 158 (1950);

103, 153 (1951). — [7] Schäfer, H., u. P. Haass: Pflügers Arch. **242**, 364 (1939). — [8] Eccles, J. C., B. Katz and S. W. Kuffler: J. Neurophysiol. **4**, 362 (1941). — [9] Paton, W. D. M.: J. Pharmacy Pharmacol. **1**, 273 (1949). — [10] Harvey, A. M.: Bull. Hopkins Hosp. **65**, 223 (1939). — [11] Jaco, N. T., and D. R. Wood: J. of Pharmacol. **82**, 63 (1944). — [12] Brown, G. L.: J. of Physiol. **89**, 220 (1937). — [13] Harvey, A. M., and F. C. MacIntosh: J. of Physiol. **97**, 408 (1940). — [14] Brücke, F., u. G. Werner: Wien. Arch. inn. Med. **28**, 198 (1947). — [15] Burgen, A. S. V., F. Dickens and L. J. Zatman: J. of Physiol. **109**, 10 (1949). — [16] Ginzel, K. H., H. Klupp et G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 79 (1951). — [17] Schein, H., u. O. Riesser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 463 (1935). — [18] Paton, W. D. M., and W. L. M. Perry: Brit. J. Pharmacol. **6**, 299 (1951). — [19] Collier, H. O. J.: Brit. Med. J. **1950**, I, p. 1293. — [20] Bovet, D., F. Depierre et Y. de Lestrange: C. r. Acad. Sci. Paris **223**, 74 (1947). — [21] Lehman, A. J.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **33**, 501 (1935). — Folkers, K., and K. Unna: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **27**, 693 (1938). — [22] Lang, D. A., K. K. Kimura et K. R. Unna: Arch. internat. Pharmacodynamie **85**, 257 (1951). — [23] Naess, K.: Acta physiol. scand. **20**, 241 (1950). — [24] McIntyre, A. R., R. E. King and A. L. Dunn: J. Neurophysiol. **8**, 297 (1945). — [25] Jarcho, L. W., B. Berman, C. Eyzaguirre and J. L. Lilienthal: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 337 (1951). — [26] Riker, W. F., and W. C. Wescoe: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 373 (1951). — [27] Naess, K.: Acta physiol. scand. **19**, 237 (1949). — [28] Kuffler, St. W.: J. Neurophysiol. **5**, 18 (1942). — [29] Briscoe, G.: J. of Physiol. **87**, 425 (1936). — [30] Paton, W. D. M., and E. J. Zaimis: J. of Physiol. **112**, 311 (1951). — [31] Hutter, O. F., and J. Pascoe: Brit. J. Pharmacol. **6**, 691 (1951). — [32] Trevan, J. W.: Science Progress **155**, 401 (1951). — [33] Randall, L. O.: J. of Pharmacol. **100**, 83 (1950). — [34] Randall, L. O.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 460 (1951). — [35] Hobbiger, F.: Brit. J. Pharmacol. **7**, 223 (1952). — [36] Kensler, C. J.: Brit. J. Pharmacol. **5**, 204 (1950). — [37] Kensler, C. J., and R. W. Elsner: Fed. Proc. **10**, 313 (1951). — [38] Petroff, J. R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **103**, 196 (1924). — [39] Kensler, C. J.: J. of Pharmacol. **95**, 28 (1949). — [40] Marsh, D. F.: Fed. Proc. **10**, 322 (1951). — [41] Barlow, R. B., and H. R. Ing: Brit. J. Pharmacol. **3**, 298 (1948). — [42] Paton, W. D. M., and E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **4**, 381 (1949). — [43] Bovet, D., F. Bovet-Nitti, S. Guarino, V. Longo u. M. Marotta: R. Ist. sup. Sanita **12**, 106 (1949). — [44] Thomas, J. E., and F. E. Franke: J. of Pharmacol. **34**, 111 (1928). — [45] Henze, M.: Pflügers Arch. **92**, 451 (1902). — [46] Höber, R., u. H. Waldenberg: Pflügers Arch. **126**, 331 (1909). — [47] Willstätter, W., u. W. Heubner: Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 3869 (1907). — [48] Mogey, G. A., and P. A. Young: Brit. J. Pharmacol. **4**, 359 (1949). — [49] Brown, G. L., W. D. M. Paton and M. Vianna Dias: J. of Physiol. **109**, 15P (1949). — [50] Zaimis, E. J.: J. of Physiol. **112**, 176 (1951). — [51] Langley, J. N.: J. of Physiol. **36**, 351 (1907). — [52] Frank, E., M. Nothmann u. H. Hirsch-Kauffmann: Pflügers Arch. **197**, 271 (1922). — [53] Bovet, D., F. Bovet-Nitti, S. Guarino, V. G. Longo u. M. Marotta: Est. d. R. d. Ist. sup. San. **12**, 106 (1949). — [54] Buttle, G. A. H., and E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **1**, 991 (1949). — [55] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 453 (1951). — [56] Ginzel, K. H., H. Klupp et G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **89**, 160 (1952). — [57] Burns, D., and W. D. M. Paton: J. of Physiol. **115**, 41 (1951). — [58] Fatt, P.: J. of Physiol. **11**, 408 (1950). — [59] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 103 (1952). — [60] Jarcho, L. W., C. Eyzaguirre, S. A. Talbot and J. L. Lilienthal jr.: Amer. J. Physiol. **162**, 475 (1950). — [61] Brown, G. L.: J. of Physiol. **89**, 449 (1937). — [62] Paton, W. D. M., and W. L. M. Perry: J. of Physiol. **112**, 48P (1951). — [63] Ginzel, K. H., H. Klupp et G. Werner: Arch.

internat. Pharmacodynamie **86**, 385 (1951). — [64] Unveröffentlichte Versuche. — [65] Paton, W. D. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 433 (1951). — [66] Randall, L. O.: J. of Pharmacol. **105**, 7, 16 (1952). — [67] Trendelenburg, P.: Handb. d. exper. Pharmakologie, I, 636. Springer 1923. — [68] Ginzel, K. H., H. Klupp, O. Kraup u. G. Werner: (im Druck). — [69] Brown, G. L., and A. M. Harvey: J. of Physiol. **99**, 379 (1941). — [70] Marsh, D. F., and D. A. Herring: J. of Pharmacol. **103**, 353 (1951). — [71] Unveröffentlichte Beobachtungen. — [72] Unna, K. R., and E. W. Pelikan: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 480 (1951). — [73] Cheymol, J.: Actualités Pharmacologiques **1949**, 1. — [74] Bremer, F., J. Titeca et L. van den Meiren: C. r. Soc. Biol. Paris **96**, 704 (1927). — [75] Ginzel, K. H., H. Klupp, H. Stormann u. G. Werner: Arzneimittelforschg **2**, 271 (1952). — [76] Hoppe, I. O.: J. of Pharmacol. **100**, 333 (1950). — [77] Schweitzer, A., and S. Wright: J. of Physiol. **94**, 136 (1938). — [78] Fleckenstein, A.: Klin. Wschr. **28**, 452 (1950). — [79] Fleckenstein, A., H. Hille u. W. E. Adam: Pflügers Arch. **253**, 264 (1951). — [80] Fleckenstein, A., E. Wagner u. K. H. Göggel: Pflügers Arch. **253**, 38 (1951).

Diskussion. Rummel: Wenn die Vorstellung richtig ist, Curare blockiere die Überleitung der Erregung dadurch, daß es die Depolarisation der entsprechenden Membran der Endplatte verhindert, indem es die Membran zwangsweise im polarisierten Zustand erhält, dann sollte man erwarten dürfen, daß Curare in einer Situation, wo die Erregungsübertragung auf Grund der *depolarisierenden* Wirkung eines Stoffes aufgehoben ist, die Überleitung durch seine *polarisierende* Wirkung wiederherstellt. Den ersten experimentellen Beweis für die Richtigkeit dieser Anschauung stellt die Wiederherstellung der Erregbarkeit durch Curare bei der Decamethoniumlähmung dar. Außerdem gibt es noch 2 Beobachtungen, die im letzten wohl auf denselben Mechanismus zurückgehen: Mautner und Luisada fanden, daß die Curarelähmung des Vagus durch Asphyxie aufzuheben ist, und Eichholtz, Taugner und Dahm zeigten, daß die Lähmung eines ischämischen Masseterpräparates durch Curare zurückgeht.

Ähnliches läßt sich am Zwerchfellphrenicuspräparat darstellen, wenn man eine an sich völlig lähmende Curaredosis gegen eine lähmende Alkoholdosis gibt. Beide können sich wechselseitig aufheben.

Die Alkohollähmung beruht unseres Erachtens auf einer Kaliumfreisetzung. Auch die Anticurarewirkung kann auf ihr beruhen. Diese Deutung der Alkoholwirkung ist durch Experimente unterbaut, auf deren Schilderung hier verzichtet werden muß.

Krüger weist an Hand von Mikrophotogrammen auf zwei verschiedene Strukturarten der Muskelfasern im Skeletmuskel hin:

1. die Fibrillenstruktur (Fi.-Str.),
2. die Felderstruktur (Fe.-Str.).

Für jeden Muskel ist der Aufbau aus einer der beiden Muskelfasern oder beiden Arten (bestimmtes Mischungsverhältnis) charakteristisch. Er bedingt das Reaktionsvermögen des Muskels. (Vgl. Paul Krüger: Tetanus und Tonus der quergestreiften Skeletmuskeln der Wirbeltiere und des Menschen. Akad. Verlagsges. Leipzig 1952.)

Krüger weist auf Parallelen zwischen Struktur der Muskeln und ihrer Reaktion auf Curare und C-10-artige Stoffe hin (vgl. P. Krüger, Anästhesist, im Druck).

Curareartige Mittel:

in geringerer Konzentration:

Fasern mit Felderstruktur: *Lähmung* (Lösung bzw. Verhinderung der tonischen Kontraktur);

in größerer Konzentration:

Fasern mit Fibrillenstruktur: *Block der Endplatte.*
Dieser Block wird *durch Hemmkörper der Cholinesterasen, durch* größere Dosen von *ACh* bzw. *durch C-10-artige Stoffe aufgehoben.*

Mikrophotogramme:

1. Kontraktur des proximalen Endes des Gastrocnemius der Frösche und Kröten (vgl. Riesser, 1921)	nur am proximalen Ende Kappe von Fasern mit Fe.-Str., etwa 4 bis 5%
2. Sartorius *Rana esculenta*, Querschnitt	ausschließlich Fasern mit Fi.-Str.
3. Palmaris *Rana esculenta*, einzelne Fasern mit Fi.-Str. bzw. Fe.-Str., stark vergröß.	Fasern mit Fe.-Str. in Peripherie und in „Tonusbündel"
4. Rectus abdominis *Rana esculenta*, Querschnitt	20—30% Fasern mit Fe.-Str. in äußerer Faserschicht; *R. temporaria* > *R. esculenta*
5. Zwerchfell Mensch (Dr. Günther-Mainz), einige Fasern	< 10% Fasern mit Fe.-Str., untermischt
6. Soleus Maus, Teil des Querschnitts	wahrscheinlich 100% Fasern mit Fe.-Str.
7. Gastrocnemius externus, Taube, Teil des Querschnitts	etwa 50% Fasern mit Fe.-Str., untermischt

8. Endplatte (Krähe): spezifische Nervendigung der Fasern mit F.-Str.
9. Endtraube (Krähe): spezifische Nervendigung der Fasern mit Fe.-Str.

Dekamethoniumartige Mittel:

Fasern mit Fibrillenstruktur:
in geringerer Konzentration: *Zuckung* (wie durch ACh);
in größerer Konzentration: *Lähmung neben der indirekten auch der direkten Erregbarkeit* (wie durch ACh).
Dieser Block wird durch Prostigmin oder Tensilon *nicht aufgehoben*, wirken *zuckungssteigernd.*
Antagonistisch wirken *curareartige Stoffe.*

Fasern mit Felderstruktur: *tonische Kontraktur* (wie durch ACh).
Diese tonische Kontraktur wird *durch curareartige Stoffe gelöst* bzw. *verhindert* (siehe oben).
Hemmkörper der Cholinesterasen wirken *verstärkend* auf die durch ACh verursachte Kontraktur.

Taugner: Beim Frosch scheint die Einteilung von Krüger in Muskeln mit Felder- bzw. Fibrillenstruktur mit der in tonisch und tetanisch reagierende übereinzustimmen. Obwohl auch beim Säugetier die beschriebene morphologische Differenzierung vorhanden ist, läßt diese sich hier mit pharmakologischen Reaktionen (z. B. Acetylcholin-Kontraktur) nicht verifizieren: Quergestreifte Muskeln von erwachsenen Säugetieren führen keine Acetylcholin-Kontraktur aus. Dagegen reagieren denervierte sowie embryonale Säugermuskeln auf Acetylcholin mit einer Kontraktur. Nach unseren Versuchen ist vor allem das Zwerchfell von Katzen (1—7 Tage nach der Geburt) hierfür ein geeignetes Versuchsobjekt. Es wird die Frage gestellt, ob denervierte oder embryonale Säugetiermuskeln sich nach der Einteilung von Krüger im Sinne von tonisch reagierenden Muskeln von den normalen Muskeln erwachsener Tiere unterscheiden.

Kewitz: 1. Die bei i.v. Injektion von Prostigmin auftretenden fasciculären Muskelzuckungen dürften nicht nur peripher ausgelöst sein, weil sie nach Arbeiten

von Herken durch eine einmalige Gabe der zentral wirkenden krampfhemmenden Hexachlorcyclohexane für mehr als 10 Tage verhindert werden können.

2. Durch die in unserem Vortrag (Nr. 29 der Tagung) vorgelegten Befunde, besonders der mit Pervitin erhobenen, könnten Zweifel entstehen an der Richtigkeit der Theorie von der Erregungsübertragung in cholinergischen Synapsen durch Acetylcholin.

Malorny: Die Angabe, daß C 10 beim Tier, im Gegensatz zum Menschen, keine Tachyphylaxie bewirke, kann am Reflex- und Nervmuskelpräparat der dekapitierten Katze bestätigt werden. Auf den Hinweis, nur die d-Tubocurarin-Lähmung könne durch C 10 antagonistisch beeinflußt werden und nicht umgekehrt, wird bemerkt, daß auch die C-10-Lähmung, namentlich im Stadium des Abklingens der Wirkung, durch sehr kleine Gaben von d-TC aufgehoben werden kann. Demnach ist also der Antagonismus d-TC-C-10 wechselseitig verifizierbar.

Stern: Reiner und ich haben bei Myotonia congenita d-Tubocurarin gegeben mit sehr gutem Erfolg. Ein Drittel der für die Narkose üblichen Dosis wirkt 10 bis 14 Tage. Es wirkt am besten an der phylogenetisch jüngsten Muskulatur, also an den Handmuskeln.

Lendle fragt, ob die Histaminfreisetzung nach Curare wirklich eine praktische Bedeutung besitzt. Die Gefährdung vor der Intubation ist wohl der Laryngospasmus, für den Histamin aber nicht verantwortlich ist.

Hauschild: Zahlreiche synthetische quartäre Ammoniumverbindungen enthalten, wie z. B. Flaxedil, C_{10} als Anion häufig Jod. Besonders das Flaxedilmolekül ist erheblich mit Jod belastet. Es wird darauf verwiesen, daß Jod als Fermenthemmer bekanntermaßen schon in relativ kleiner Dosis wirksam werden kann. Bei Untersuchungen an isolierten Organen könnte auch Jod möglicherweise von Bedeutung sein, und es wird gefragt, inwieweit dieser Umstand zu berücksichtigen ist.

Taugner: Es wird darauf hingewiesen, daß vergleichende Versuche am doppelten Masseterpräparat nach Eichholtz, Taugner u. Dahm eine erhöhte Empfindlichkeit des ermüdeten Muskels gegenüber d-Tubocurarin ergaben. Dies dürfte eine Analogie zu den Verhältnissen bei der Myasthenie darstellen.

K. Unna (Chikago): Vergleichende pharmakologische Auswertung curareartiger Stoffe am Menschen.

Da das Originalreferat nicht eingetroffen ist, gibt der Herausgeber folgenden Kurzbericht:

Unna weist darauf hin, daß bezüglich der chemischen Konstitution der curareartig wirkenden Stoffe bisher nur feststeht, daß die meisten von ihnen 2 oder 3 quartäre Stickstoffe enthalten, die einen bestimmten Abstand voneinander haben müssen. Der Abstand wird durch Atomketten, die meist 8—10 C-Atome enthalten, gewahrt.

Da die verschiedenen Laboratoriumstiere ganz verschiedenartig auf curareartige Alkaloide und pharmakologisch ähnlich wirkende Substanzen reagieren, ist für die klinische Anwendung der Versuch am Menschen entscheidend.

Unna führte in Selbstversuchen die gleichzeitige Registrierung der groben Muskelkraft, der Vitalkapazität, des EEG und des EKG durch.

Von der zu prüfenden Substanz wurde so viel gespritzt, bis der Händedruck im Dynamometer auf 5% des Ausgangsdruckes abgesunken war. Aus der gleichzeitigen Abnahme der Vitalkapazität wird auf die therapeutische Breite geschlossen. Mit diesem Verfahren werden die Reihenfolge der Muskellähmungen, die Verträglichkeit (Cyanose!) und die Wirkungsdauer folgender Präparate verglichen: d-Tubocurarin, Dimethyl-Curarin, Flaxedil und Dekamethonium. Von den Curare-Antagonisten wird besonders das Tensilon erörtert.

Einzelheiten des Referates sind im wesentlichen aus folgenden Publikationen des Autors zu entnehmen:

Unna, K. R., and E. W. Pelikan: Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, Art. 3, Pag. 480 (1951). — Unna, K. R., E. W. Pelikan, D. W. MacFarlane, R. J. Cazort, M. S. Sadove, J. T. Nelson and A. P. Drucker: J. of Pharmacol. **98**, 3 (1950). — Pelikan, E. W., K. R. Unna, D. W. MacFarlane, R. J. Cazort, M. S. Sadove and J. T. Nelson: J. of Pharmacol. **99**, 215 (1950). — MacFarlane, D. W., K. R. Unna, E. W. Pelikan, R. J. Cazort, M. S. Sadove and J. T. Nelson: J. of Pharmacol. **99**, 226 (1950). — Unna, K. R., E. W. Pelikan, D. W. MacFarlane and M. S. Sadove: J. of Pharmacol. **100**, 201 (1950). — MacFarlane, D. W., E. W. Pelikan and K. R. Unna: J. of Pharmacol. **100**, 382 (1950).

C. Einzelvorträge.

H. Poppe (Göttingen): Verteilung, Resorption und Ausscheidung von männlichem Sexualhormon.

Angeregt durch die guten Erfahrungen bei der Verwendung von Testosteronen in Fällen von fortgeschrittenem Brustkrebs der Frau wurden Untersuchungen mit einem etikettierten Methyltestosteron vorgenommen. Dabei war im Molekülverband die Methylgruppe in der C-17-Stellung durch ein radioaktives C-Atom$_{14}$ ersetzt. Auf Grund von Aktivitätsbestimmungen an alkoholischen Gewebshydrolysaten aus Organen von 462 Ratten und Mäusen wird besonders über die Resorption, Verteilung und Ausscheidung des Methyltestosterons im Organismus berichtet. Dabei kommt der Hypophyse und Nebennierenrinde eine erhebliche, dosisabhängige Speicherungsfunktion nach der Verabfolgung von Methyltestosteron zu. Die Verteilung und Ausscheidung verschiedener Applikationsformen des Hormons (linguale Resorption, intramuskuläre Applikation und Ausscheidungsverhältnisse nach der subfascialen Implantation von kristallisiertem Hormon) wird in Kurven demonstriert.

Bestimmungen des radioaktiven CO_2-Gehaltes der Ausatmungsluft erwiesen, daß in den ersten 36—48 Std 17—29% der durch das Hormon eingebrachten Aktivität vom Tier als CO_2 ausgeatmet werden können. Dieser Wert entspricht der Demethylierung. Unser Nachweisverfahren erlaubt, mit Verlusten von nur 14—16% zu arbeiten.

K. Hinrichs (Göttingen): Die Rolle der Nebenniere bei der Medikation von CONTEBEN.

Eine Reihe von Untersuchungen deuten auf einen Zusammenhang der Contebenwirkung mit der Nebennierenrinde hin, was in erster Linie in einer spezifischen Wirkung auf die allgemeine Entzündungsbereitschaft zum Ausdruck kommt.

Da mit den chemischen Nachweismethoden niemals das intakte Conteben erfaßt werden konnte, sind wir dazu übergegangen, markiertes Conteben zu verwenden, in dem an die Stelle des inaktiven S im Thiosemicarbazon der isotope ^{35}S eingebaut wurde.

Zu den Versuchen wurden ausgewachsene Meerschweinchen von mindestens 300 g Gewicht verwendet. Das Conteben wurde in Mengen von 50—200 mg in verschiedenen Versuchsreihen verabfolgt. Die Applikation erfolgte durch eine Magensonde. In einzelnen Fällen haben wir, um die Resorptionsverhältnisse zu studieren, das Präparat in Substanz in die

freie Bauchhöhle eingebracht. Alle Tiere wurden in wechselnden Zeitabständen nach Applikation getötet und die Organe nach H. R. Kanitz aufgearbeitet. Kontrollversuche mit etikettiertem Conteben hatten ergeben, daß das Schwefelatom des Contebenmoleküls in einer Soda-Salpeter-Schmelze quantitativ zu Sulfat oxydiert wird.

Die Verluste bei der Aufarbeitung betrugen 2%. Die Aktivitätsbestimmungen wurden mit dem Geiger-Müller-Strahlungsmeßgerät FH 44 mit Auflösungsvermögen Nw:Na wie 1:1 und Glockenzählrohr mit Glimmerfensterung von 1,6 mg/cm² ausgeführt.

Nach unseren bisherigen Untersuchungen glauben wir annehmen zu dürfen, daß nur ein Teil des peroral verabfolgten Contebens resorbiert wird. Ein größerer Teil wird durch den Darm unresorbiert wieder ausgeschieden. Eine intermediäre Resorption und Wiederausscheidung im Dickdarm konnte durch Aktivitätsmessungen des Kotes ausgeschlossen werden. Außerdem hätte sich in diesem Falle zu irgendeinem Zeitpunkt eine vermehrte Organaktivität zu Ungunsten der Kotaktivität finden lassen müssen. Die hohen Ausscheidungsquoten im Urin, die andere Autoren fanden, können wir nicht bestätigen. Zum mindesten liegt im Urin der markierte Schwefel des Contebenmoleküls nicht mehr vor. Da nach Heilmeyer u. a. die tuberculostatische Wirkung des Contebens an die Integrität des Moleküls gebunden sein soll, kann also allenfalls ausgeschiedenen Teilstücken und Abbauprodukten, die keinen Schwefel mehr enthalten, eine Wirkung auf die Tuberkulose nicht mehr zugeschrieben werden. Die auffallende Anreicherung in der Nebenniere, die aus den oben angegebenen Überlegungen wahrscheinlich durch ein Abbauprodukt des Contebens bedingt ist, legt die Vermutung nahe, daß durch diesen Stoff die unspezifische Wirkung auf den Körper zustande kommt. Gleichzeitig erhebt sich damit die Frage, ob in Hinsicht auf die vielen widersprechenden Urteile in der Literatur eine direkte Wirkung auf den Tuberkelbacillus überhaupt das Wesentliche der Conteben-Therapie ist, oder ob uns mit dem Conteben ein hochwirksames, unspezifisches Therapeuticum mit einem Wirkungsmechanismus über die Nebennierenrinde in die Hand gegeben ist.

G. Urban, G. Wagner u. I. Nordhaus (Jena): Über die Wirkung des UV-Lichtes auf experimentell durch aromatische Nitroverbindungen entstehende Hautverfärbungen*.

In vorangegangenen Untersuchungen war gezeigt worden, daß anorganisches Nitrat in der Haut nicht reduziert wird, daß dagegen organisch gebundenes Nitrat, nämlich Äthylnitrat, durch UV-Licht zu Nitrit

* Herrn Prof. Dr. Knöll zum 40. Geburtstag.

reduziert wird, welches sich mit den Sulfhydrilkörpern der Haut wahrscheinlich zu Nitrosylmercaptiden vereinigt. Die Untersuchungen wurden mit aromatischen Nitroverbindungen fortgesetzt, deren reduktive Umwandlung im Blut durch Heubner nachgewiesen worden ist, während ihr Verhalten in der Haut, die reich an reduzierenden Gruppen ist, noch nicht geprüft wurde.

Die Versuche wurden an isolierten Schweine- oder Kaninchenohren ausgeführt. Abgegrenzte Bezirke der sich bei der Durchströmung meist gelb färbenden Ohrhaut wurden mit UV-Licht bestrahlt. Bestrahlungsversuche in Quarzgläsern, bei denen den Nitrokörperlösungen Cystein (statt des Hautsulfhydrils) oder Ascorbinsäure zugesetzt wurde, dienten als Ergänzung.

Mononitroverbindungen reagierten unterschiedlich. o- und m-Nitranilin wurden durch 7stündige Bestrahlung nicht verändert. Bei o- und m-Nitrophenol und p-Nitrotoluol trat im bestrahlten Bezirk eine erkennbare Braunfärbung ein. Deutlicher war die Orange- oder Braunfärbung der nur 3½ Std lang bestrahlten Zone in der durch p-Nitrophenol oder p-Nitranilin gelb gefärbten Ohrhaut. Eine Farbänderung der unbestrahlten Haut wurde nicht beobachtet.

In ihrer Lokalisation entsprachen die Verfärbungen bei allen Nitroverbindungen, soweit es wegen des Ausfließens des Farbstoffes zu beurteilen war, den Metallfärbungen (Urban). Am stärksten waren die Epidermis und ihre Anhangsgebilde gefärbt, die durch hohen Sulfhydrilgehalt und Reduktionsvermögen ausgezeichnet sind. Weniger waren das Corium und das subcutane Bindegewebe von der Verfärbung betroffen.

Unter den Dinitroverbindungen wurden das farblose o- u. m-Dinitrobenzol schon in der unbestrahlten Haut reduziert, wahrscheinlich zu gelb gefärbtem Nitrophenylhydroxylamin; Bestrahlung rief nur geringe Bräunung hervor. Wesentlich leichter wurde nach 3—4stündiger Bestrahlung die durch 3,5-Dinitrosalicylsäure bewirkte Gelbfärbung der Haut in Orangefarbe umgewandelt. Eindrucksvolle Bilder wurden mit der farblosen 3,5-Dinitrobenzoesäure erhalten, welche die unbestrahlte Haut nicht anfärbte. Nur im bestrahlten Bezirk wurde sie in eine rotbraun gefärbte Reduktionsstufe übergeführt, die auch im Reagensglasversuch durch Cystein und Ascorbinsäure entstand.

Trinitrophenol wurde in vitro unter aeroben und anaeroben Bedingungen glatt reduziert. Durch Cystein wurde es braun, durch Ascorbinsäure orange gefärbt, wenn die Proben bestrahlt wurden. Die unbestrahlten cystein- oder ascorbinsäurehaltigen Trinitrophenollösungen veränderten ihre Farbe bedeutend langsamer. Reine Pikrinsäurelösungen, bestrahlt oder unbestrahlt, blieben gelb. Die Orange- und Braunfärbung war durch die entstandene Pikraminsäure bedingt, die durch die Diazoreaktion identifiziert wurde. Wenn die durch Pikrinsäure gelb gefärbte

Haut 2½—4 Std bestrahlt wurde, war sie ebenfalls, offenbar durch Pikraminsäure, orangebraun verfärbt. Es ist hinzuzufügen, daß auch die unbestrahlte Haut die Fähigkeit zur Pikrinsäurereduktion besitzt, allerdings in viel geringerem Maße. Wie die Pikrinsäure verhielt sich Trinitro-m-kresol, mit dem Unterschied, daß die Verfärbung erst nach 7stündiger Bestrahlungsdauer deutlich sichtbar wurde.

Versuche mit Lichtfiltern führten zu der Feststellung, daß die Umwandlung der Nitroverbindungen in der Haut nicht nur durch das volle Licht der Quarzlampe bewirkt wurde, sondern daß auch nach Absorption des kurzwelligen UV-Lichtes eine erkennbare Verfärbung zustande kam. Eine reduktionsbeschleunigende Wirkung des sichtbaren Lichtes konnte nicht nachgewiesen werden.

Es ergibt sich somit, daß viele aromatische Nitroverbindungen in der belichteten Haut reduziert werden. Je nach dem Grad der Reduktion, der wahrscheinlich von der chemischen Struktur abhängig ist, kann dabei eine Giftung oder Entgiftung im Sinne von Lipschitz stattfinden. An dem Reduktionsvorgang, der durch das Licht stark beschleunigt wird, sind die Sulfhydrilkörper der Haut maßgeblich beteiligt. Unsere Ergebnisse stellen daher einen weiteren Beitrag zur Sulfhydrilhypothese von Wels dar.

Die praktisch wichtige Frage, ob man den in der Nitrosprengstoffindustrie Beschäftigten von intensiver Besonnung abraten soll, ist zu bejahen, solange nicht feststeht, daß kein Abtransport giftiger Reduktionsprodukte aus der Haut in die Organe erfolgt.

K. Repke (Greifswald): Über Hämolyse durch ultraviolette Strahlen.

Bei quantitativen Untersuchungen über die Hämolyse nach Einwirkung ultravioletter Strahlen wurden Befunde erhoben, welche zum Verständnis des Mechanismus der destruierenden Wirkung ultravioletter Strahlen beitragen können. Ausgangspunkt war die Feststellung, daß Sulfhydrile die Hämolyse noch in Konzentrationen von 3×10^{-4} molar (Glutathion, Cystein) bzw. $1{,}5 \times 10^{-4}$ molar (Dimercaptopropanol) über viele Stunden zu verzögern vermögen. Zur Erklärung dieses Schutzeffektes folgten wir zunächst der von Rummel für den Fall der Urethanhämolyse entwickelten Vorstellung, wonach die Sulfhydrile auf Grund ihrer Stoffwechselwirkung (Bruns u. Rummel) zusätzlich Energie zur Erhaltung des normalen Kationenungleichgewichts frei machen, welches bekanntlich vor Eintreten der Ultravioletthämolyse verlorengeht. Es wurde jedoch Unabhängigkeit der Schutzwirkung von der Stoffwechselwirkung der Thiole gefunden. Denn verhinderte man die durch die SH-Körper induzierte Atmungssteigerung der roten Blutzellen, indem man ihnen das Substrat der Atmung, die Glucose, entzog, dann blieb der

Effekt unverändert bestehen. — An dem Zustandekommen der Hämolyse sind aber sicher Photooxydationen beteiligt, denn es konnte nachgewiesen werden, daß die Hämolyse in Sauerstoffabwesenheit beträchtlich verzögert abläuft. Offenbar beruht die Schutzwirkung der Sulfhydrile darauf, daß sie die Oxydationswirkung von den strukturbildenden Zellbestandteilen (vermutlich das Membraneiweiß Stromatin) auf sich ablenken.

Diskussion. Rummel: Die Befunde von Repke sind von besonderem Interesse, weil sie das Schwergewicht auf die zweite der beiden von Rummel vor zwei Jahren zur Diskussion gestellten Möglichkeiten zu verlagern scheinen. Angesichts der p_H-abhängigen Wirkungsumkehr von Cystein wurde damals schon die Bedeutung des p_H besonders unterstrichen. Dennoch hielt Rummel es nicht für richtig, diesen Mechanismus vom Stoffwechselmechanismus scharf zu trennen und einem den Vorzug zu geben, ehe nicht eine weitere Analyse zur Aufklärung der Reihenfolge in der Ursachenkette der Vorgänge erfolgt ist. Wichtig ist die genaue Kenntnis der Bedingungen. Das zeigt die Gegenüberstellung, daß auf der einen Seite durch Urethan bei gleichzeitiger völliger Oxydationshemmung Hämolyse erfolgt, die durch Cystein unter Restitution der Oxydation gehemmt wird, und daß auf der anderen Seite die Strahlenhämolyse bei Oxydationshemmung durch O_2-Entzug gehemmt wird. Die Stoffwechselprozesse werden in diesem Zusammenhang gewöhnlich zu summarisch behandelt. Methylenblau und Cystein steigern beide die Glucoseoxydation, aber M. entkoppelt die oxydative Phosphorylierung, während Cystein die Synthese von organischem Phosphat verbessert. Cystein hat gleichzeitig einen positiven Einfluß auf den Kaliumtransport und M. keinen.

Heubner fragt nach der Rolle der Wasserstoffperoxyde bei der Bestrahlungshämolyse.

Schlußbemerkung. Wels: Die von Repke ausgesprochene Vermutung, daß die Strahlenhämolyse durch oxydative Veränderungen im Membraneiweiß zustande komme und daß die Schutzwirkung der SH-Körper darauf beruhe, daß sie diese Photooxydationen verhindern, wird durch andere Versuche unseres Instituts gestützt, die von K. Erdmann angestellt worden sind. Sie führten zu folgenden Hauptergebnissen: 1. Die Trübung einer Euglobulin-Lösung durch UV-Bestrahlung tritt bei Gegenwart von SH-Körpern nicht ein. 2. Denselben koagulationsverhindernden Einfluß zeigt die SH-Gruppe unter geeigneten Bedingungen auch am Eiweiß des UV-bestrahlten Zellkernes (Flußmuschelei). 3. Die durch Röntgenbestrahlung bewirkte Wachstumshemmung — die wahrscheinlich mit den Koagulationsvorgängen im Zelleiweiß zusammenhängt — wird durch SH-Körper vermindert (Versuche an Bierhefe). — Die Ergebnisse von Erdmann und Repke sind zunächst für das Verständnis der Schutzwirkung gegen Strahlenschäden wichtig, welche die SH-Körper (neben anderen Substanzen) in neueren Arbeiten aus Amerika, Frankreich und Belgien bei Versuchen am Ganztier gezeigt haben. Vielleicht üben reduzierende Stoffe aber auch ganz allgemein eine Hemmwirkung nicht nur bei der groben oxydativen Strahlendenaturierung des Eiweißes aus, sondern auch bei den feineren Verfallserscheinungen in der submikroskopischen Struktur der lebenden Substanz, wie sie anscheinend bei jeder Organfunktion ständig stattfinden. Wenn das zuträfe, so wäre ein neuer, sehr allgemeiner Gesichtspunkt für die belebende Wirkung des Lichtes auf den Menschen gewonnen. Nach unserer in dem Vortrag von Urban erneut angeführten „Sulfhydrilhypothese" bewirkt die Belichtung der Haut einen Einstrom von Reduktionsvalenzen in das Körperinnere.

W. Scheler (Berlin-Ost): Intermolekulare Reaktion beim Hämoglobin.

1942 zeigte Roughton, daß die O_2-Bindungskurve des Hämoglobins bei Gegenwart von Methämoglobin in derselben Weise verändert wird, wie in Gegenwart von CO-Hämoglobin. Der Befund wurde später von Kiese bestätigt.

Da im Falle des Methämoglobins, anders wie beim CO, kein frei diffusibler Reaktionspartner des Hämoglobins vorliegt, muß hier erwartet werden, daß sich Gemische aus total oxydierten und normalen Molekülen (durch Mischung hergestellt) und andererseits Lösungen partiell oxydierter Moleküle verschieden verhalten. Diese bereits von Roughton gesuchten Unterschiede lassen sich ohne große Schwierigkeiten nachweisen, wenn Blutproben verglichen werden, welche

1. zweierlei Zellen (mit 100% und praktisch 0%) enthalten. Diese Zellsuspensionen zeigen eine normale O_2-Bindungskurve. Sie enthielten 75% Methämoglobin im Gesamtansatz.

2. Blutzellen enthielten, die durch vorsichtige Zugabe von $NaNO_2$ partiell (zu 75%) oxydiert wurden. Hier ergab sich der bereits von Roughton und von Kiese beschriebene Effekt.

Eine Methämoglobinaemie von einem bestimmten Prozentsatz besitzt also je nach Zustandekommen eine verschiedene physiologische Bedeutung.

In Blutfarbstoffgemischen von vollständig oxydierten und reduzierten Molekülen waren sofort nur partiell oxydierte Moleküle nachweisbar, d.h. daß die intermolekulare Umsetzung zwischen den einzelnen Hämoglobinmolekülen sehr schnell gehen muß. Durch Bau eines besonderen doppelkammerigen Tonometers gelang die Erfassung der Reaktion. Sie läuft in ca. 70 sec ab, Halbwertszeit ca. 20 sec.

M. Siess (Tübingen): Glykogen und Kontraktion bei Zwerchfell und Vorhof der Maus.

Mäusezwerchfelle (MZ) besitzen eine mittlere Dicke von 350 μ und werden daher auch in der Innenzone optimal mit Sauerstoff versorgt. Aufhängen in Fritten bei 37° C in Tyrode-Lösung, direkte Reizung mit Öffnungsinduktionsstößen (40—60/min), Fixierung in 100% Alkohol, histologischer Glykogennachweis nach McManus.

Kontraktilität und Überlebenszeit sind abhängig von der Anwesenheit eines Energiespenders in Muskel- bzw. Nährlösung. Der normale Glykogengehalt des MZ reicht für die aerobe Energiegewinnung etwa 2—3 Std aus. Energiemangel zeigt sich funktionell in einer allmählich zunehmenden Rückstandskontraktur und systolischem Stillstand. Zu diesem Zeitpunkt enthält der Muskel kein Glykogen mehr und ist ohne

Zufuhr eines Energiespenders nur wenige Minuten lebensfähig. Rechtzeitige Zugabe von Glucose, Fructose und Mannose (0,3%) führt unter Glykogenaufbau zur sofortigen Lösung der Kontraktur und Wiedereinsetzen von Kontraktionen. Na-Pyruvat, -Acetat, -Lactat, -Fumarat führen ohne Glykogenaufbau ebenfalls — wenn auch nur über kürzere Zeit — zur Erholung. Keine Wirkung zeigen Galaktose, Lactose, Saccharose, Zitrat, Glycerin, a-Ketoglutarsäure, Alkohol ATP, Glykokoll, Glutaminsäure. — In Glucose oder Fructose halten die Kontraktionen ohne Verminderung des Glykogengehaltes unverändert 6 bis 8 Std an.

Erstickung des ruhenden oder arbeitenden MZ führt innerhalb weniger Minuten in glukosefreier Nährlösung zum vollständigen Glykogenschwund und starker Kontraktur, welche nach etwa 10 min ihren Gipfel erreicht. Erholung durch Sauerstoffzufuhr ist nur innerhalb dieser Zeit noch möglich, wobei aber ohne Glucosezusatz kein Glykogen mehr aufgebaut wird. Ohne Sauerstoff läßt nach etwa 30 min die Kontraktur nach, wobei histologisch degenerative Veränderungen an den Fasern nachweisbar werden. Auch Glucosezusatz vermag in den ersten 10 min die Überlebenszeit des Muskels trotz Kontraktur zu verlängern. Sauerstoffzufuhr führt dann noch nach 1—2 Std zu Wiedereintritt von Kontraktionen und Glykogenaufbau. Ist von vornherein Glucose in der Nährlösung, so wird mit steigender Glucosekonzentration die Erstickungskontraktur stark abgeschwächt und der Glykogenschwund verzögert. Kleine Kontraktionsausschläge bleiben bestehen, die Überlebenszeit wird um Stunden verlängert. Im Unterschied zu Glucose wirkt Fructose anaerob auf den Muskel nicht schützend. Dies zeigt sich auch bei Cyanideinwirkung.

Mäuse-, Ratten- und Meerschweinchenherzvorhöfe ergeben auch hinsichtlich der anaeroben Nichtverwertung der Fructose die gleichen Ergebnisse. Nur zeigen Meerschweinchenmuskeln langsamere Stoffwechselvorgänge. Bei dicken Gewebsstücken kommt es auch aerob infolge der Nichtverwertung der Fructose in der anoxischen glykogenfreien Innenzone zur stufenweisen Systolisierung.

Diskussion. Bühler: Die entscheidende Bedeutung der Sauerstoffversorgung zeigt sich auch bei der Einwirkung von Adrenochrom auf die Glykogensynthese in der Mäusebauchmuskulatur in vitro (chemische Bestimmung).

R. Taugner (Heidelberg): Die Phosphatausscheidung durch die Nieren.

Eichholtz u. Starling wiesen 1923 darauf hin, daß es bei Zufuhr von Glycerophosphat durch die Phosphatasen der Tubuluszellen zur Abspaltung und tubulären Sekretion von anorganischem P kommen kann. Diese Möglichkeit wurde später vor allem von Kay bestritten. Seit den

Untersuchungen von Pitts u. Alexander gilt als bewiesen, daß anorganisches P lediglich filtriert und rückresorbiert wird. Über die Ausscheidung der organischen Phosphate ist wenig bekannt.

Gemeinsam mit Braun u. von Bubnoff untersuchten wir — unter Verwendung der Clearance-Technik — den Ausscheidungsmodus von anorganischem und organischem P während einer Infusion von Glycerophosphat bzw. Fructose-Diphosphat. Katzen, Urethan-Chloralose-Narkose. Dauer der Clearance-Perioden je 10 min. Zur Messung der Filtration diente exogenes Kreatinin. Die Größe der Rückresorption bzw. Sekretion wurde in der üblichen Weise aus der Differenz zwischen der filtrierten und ausgeschiedenen Menge an anorganischem bzw. organischem P berechnet. Die filtrierte Menge ergibt sich aus der Kreatinin-Clearance × Plasma-P-Spiegel. Wir gingen bei dieser Berechnung von der — für den Nachweis einer tubulären Sekretion ungünstigen und nach den Befunden von J. Govaerts unrichtigen — Annahme aus, daß alle Plasma-Phosphate filtrierbar seien.

Der Nachweis einer Sekretion von anorganischem P gelingt bei der Infusion von 2 g Glycerophosphat zusammen mit 60 mg Theophyllin/h sowie nach Hypophysektomie. Die Ausscheidung von anorganischem P ist dabei in einzelnen Clearance-Perioden um 20% größer als die errechnete Filtration. Beim organischen Phosphat werden unter den genannten Versuchsbedingungen bis zu 50% tubulär sezerniert. Auch bei der Infusion von Fructose-Diphosphat kommt es zur tubulären Sekretion von anorganischem und organischem P.

Unsere Untersuchungen beweisen die Möglichkeit einer tubulären Sekretion von anorganischem und organischem P. Die Frage nach der physiologischen Bedeutung dieser Ausscheidungsmodi kann erst beantwortet werden, wenn wir über die Filtrierbarkeit der Blutphosphate und über die organischen Plasmaphosphate, vor allem die sogenannte „labile Phosphatfraktion", Sicheres wissen.

V. Erspamer (Bari, Italien): Physiologische Bedeutung des Enteramins.

Das Enteramin stellt das spezifische Sekretions- oder Speicherungsprodukt des Systems der enterochromaffinen Zellen dar.

Die Substanz wurde in reinem Zustande, als Pikrat, aus Acetonextrakten der hinteren Speicheldrüsen von *Octopus vulgaris* und aus Extrakten der Haut von *Discoglossus pictus* isoliert und bei der chemischen Analyse als 5-Hydroxytryptamin erkannt. Diese Identifizierung wurde durch die Synthese der Substanz endgültig bestätigt, welche zur selben Zeit in zwei amerikanischen Laboratorien und in unserem Laboratorium durchgeführt worden ist.

Die amerikanischen Forscher verfolgten das Ziel, das *Serotonin* von Rapport zu reproduzieren. Es handelt sich dabei um eine biogene gefäßverengernde und blutdrucksteigernde Substanz, welche von Rapport aus dem Blutserum des Rindes isoliert worden ist.

Da auch das Serotonin sicher mit dem 5-Hydroxytryptamin identisch ist, so stellt diese Substanz nichts anderes als zirkulierendes Enteramin dar. Es scheint, daß im Transport des Enteramins die Blutplättchen eine wichtige Rolle spielen, mindestens bei Säugetieren (Rand u. Reid). Nach Rapport würde sich das Serotonin in aktiver Form erst bei der Gerinnung des Blutes freisetzen.

Für die amerikanischen und die australischen Forscher ist die physiologische Bedeutung des Enteramins noch unklar. Rapport scheint doch geneigt zu sein, dem Serotonin eine Rolle bei der Hämostase zuzuschreiben. Das Aufhalten der Hämorrhagie infolge einer Gefäßverletzung würde sich nach diesem Verfasser durch zwei Mechanismen verwirklichen: erstens durch die Blutgerinnung und zweitens durch die Freisetzung des Serotonins, das gerade bei der Gerinnung des Blutes entsteht und das lokal gefäßverengernd wirken würde. Die enge Adhäsion zwischen Blutgerinnsel und kontrahierter Gefäßwand würde eine sicherere und wirksamere Hämostase gewährleisten.

Gegen die Auffassung von Rapport können mehrere Einwände erhoben werden. Der wichtigste darunter scheint uns dieser zu sein, daß Rapport das Vorhandensein und die Verbreitung des Systems der enterochromaffinen Zellen und des Enteramins vollkommen ignoriert und demzufolge unbeachtet läßt.

Wir lehnen die Auffassung Rapports ab.

Nach unserem Standpunkte stellt das Enteramin ein echtes Hormon dar, welchem die Aufgabe gebühren sollte die Durchströmung des Blutes bzw. des Hämolymphs durch die Niere und somit die Funktion der Niere selbst zu regulieren.

Bei der Ratte und wahrscheinlich auch bei anderen Säugetieren äußert sich die Kontrolle der intrarenalen Vasomotorik (E. Frey u. J. Frey) dadurch, daß das Enteramin den Tonus der kontraktilen Strukturen des afferenten Gefäßsystems des Glomerulus reguliert. Das Enteramin erhöht diesen Tonus, verengert das Lumen der zuführenden Arterien und Arteriolen und vermindert somit die Durchblutung des Glomerulus. Die Folge ist eine Erniedrigung des intraglomerulären hydrostatischen Druckes, eine Abnahme der Menge des Glomerulusfiltrates und eine Abnahme der Urinmenge.

Der vasculäre Angriffspunkt des Enteramins wurde durch Clearance-Versuche (Thiosulfat, Kreatinin, p-Aminohippursäure) und teilweise auch durch Sichtbarmachungsversuche des Gefäßinhaltes mit Benzidin und der Gefäßwände mit Thioflavin-S festgestellt.

Unsere Hypothese stützt sich auf folgende Daten:

1. Das Enteramin wirkt auf die afferenten Gefäße des Glomerulus der Rattenniere noch bei Dosen, welche den allgemeinen Blutdruck und alle anderen Funktionen des Organismus unbeeinflußt lassen. Bei der gewässerten Ratte beträgt die kleinste antidiuretische Dosis von Enteraminpikrat etwa 10 γ/kg Körpergewicht. Diese Dosis ist mindestens 50mal niedriger als die kleinste Dosis, die den allgemeinen Blutdruck zu modifizieren vermag, und 20000mal niedriger als die mittlere tödliche Dosis.

Nicht viel höher sollen die liminalen Dosen beim Hunde und beim Menschen liegen.

2. Der Enteramingehalt der Blutplättchen und der Milz ist bei allen untersuchten Säugetieren hinreichend groß um, bei plötzlicher Freisetzung, eine deutliche Verengerung der Nierengefäße zu verursachen.

Man braucht nur diesbezüglich die altbekannten vasokonstriktorischen Wirkungen des frisch defibrinierten Blutes zu erwähnen, welche bei den Durchblutungsversuchen der Niere, z. B. im Herz-Lungen-Nierenpräparat nach Starling, besonders deutlich zu erscheinen pflegen.

Das Blut der Ratte enthält etwa 1,5 γ/cm^3 und die Milz etwa 6 γ/g. Enteraminpikrat, das heißt insgesamt etwa 120 γ Enteraminpikrat/kg Körpergewicht. Diese Menge entspricht 12 aktiven Enteramindosen, bei subcutaner Darreichung.

3. Das System der enterochromaffinen Zellen ist bei allen Wirbeltierklassen vertreten, mit Ausnahme einiger Fischgruppen (Teleostier, Cyclostomen). Nun aber, gerade bei den Teleostiern hat der glomeruläre Apparat einen Involutionsprozeß erfahren, welcher bei einigen Seearten sogar zur aglomerulären Niere geführt hat.

Es ist zu bemerken, daß die Magendarmschleimhaut der Teleostier reichliche basalgekörnte Zellen enthält (die sogenannten „präenterochromaffinen Zellen"), die bei der Anwendung der gewöhnlichen unspezifischen Färbemethoden von den echten enterochromaffinen Zellen keineswegs zu unterscheiden sind, wohl aber bei der Anwendung der spezifischen histochemischen Reaktionen des Enteramins, welche stets negativ ausfallen.

Wo also der glomeruläre Apparat fehlt oder stark modifiziert ist, dort fehlt das Hormon, welches die Durchblutung und die Funktion dieses Apparates reguliert.

4. Unsere Hypothese steht in gutem Einklang mit der Verbreitung des Enteramins und des Systems der enterochromaffinen Zellen in der ganzen Tierreihe, von den Säugetieren bis zu den Aschidien und den Weichtieren.

Das Enteramin mag in sehr großen Mengen in den Hautdrüsen der Amphibien vorhanden sein. Es ist möglich, daß die Substanz hier eine Rolle beim Wasseraustausch durch die Haut spielt.

Wenn man einen intrarenalen vasculären Angriffspunkt des Enteramins annimmt, so muß man die Möglichkeit ins Auge fassen, daß die Substanz auch bei der Entstehung funktioneller oder anatomischer Abänderungen des Nierengefäßsystems interferiert: Freisetzung des Renins, Pathogenesis des „ischemuric episode" bei der toxischen und nicht toxischen akuten Anurie, Genese der malignen Nephrosclerosis und des renalen Hochdruckes usw.

Die Erforschung von Antienteraminen ist im Gange: die besten bis jetzt aufgefundenen Produkte sind einige gut bekannte Sympathicolytica, wie Dihydroergotamin und Dibenamin. Letzte Substanz eignet sich auch außerordentlich gut zur Differenzierung des Enteramins von anderen aktiven Stoffen, bei der Anwendung als Testobjekt des Oestrus-Uterus der Ratte.

Auch die Antihistamine sind oft imstande der Enteramin-Antidiurese in wirksamer Weise entgegenzuwirken (z. B. Pyribenzamin, Benadryl, Neohetramin, Thenilen). Die Antienteramin-Wirkung dieser Stoffe scheint jedoch erheblich schwächer und vor allem erheblich unregelmäßiger zu sein als diejenige der Sympathicolytica.

Mehrere andere Versuche sind im Gange in unseren und in anderen Instituten über die antidiuretische Wirkung des Enteramins bei anderen Tierarten (Mensch eingeschlossen), über die Beeinflussung dieser Wirkung durch die verschiedensten Agentien, über das Erscheinen des Systems der enterochromaffinen Zellen und des Enteramins während der embryonalen Entwicklung, über den Enteramingehalt des Blutes bei den verschiedenen Wirbeltierklassen und bei den Weichtieren usw.

Hoffentlich wird es uns gelingen durch diese Arbeit die biologische Bedeutung des Enteramins noch weiter aufzuklären.

Diskussion. P. Holtz: Welches ist das pressorische Wirksamkeitsverhältnis zwischen Enteramin (Oxy-tryptamin) und Adrenalin bzw. Nor-Adrenalin.

Erspamer antwortet: Die Wirkung des Enteramins auf den Blutdruck vermag sehr verschieden zu sein: manchmal rein blutdrucksteigernd (Spinalkatze), in anderen Fällen zweiphasisch (Hund) oder sogar rein blutdrucksenkend (Kaninchen, Ratte).

Ein Vergleich mit Adrenalin oder Nor-Adrenalin gibt keine eindeutigen Resultate: bei der Spinalkatze ist die blutdrucksteigernde Aktivität des Enteramins 20—60mal niedriger als diejenige des Adrenalins.

W. Flacke u. Mülke (Düsseldorf): Zur Wirkung von Pharmaka im Unterdruck.

Emerson u. Mitarb. haben in einer Reihe von Mitteilungen gezeigt, daß verschiedene Pharmaka bei Mäusen eine Schutzwirkung gegenüber dem Tod durch Sauerstoffmangel im Unterdruck ausüben. Da es sich

um sehr verschiedenartige Stoffe handelt, nehmen sie zur Erklärung der von ihnen beobachteten Effekte Atmungs-, Kreislauf-, Herz- und Stoffwechseleinflüsse an, ohne jedoch ihre Theorien im einzelnen sicher zu stellen. Nach eigenen Beobachtungen scheint es jedoch möglich, mehr oder weniger bei allen bisher als wirksam befundenen Stoffen die Schutzwirkung auf eine gemeinsame Ursache zurückzuführen, die sich durch Beobachtung der Körpertemperatur ergab. In unseren Versuchen wurden Mäuse in einer Unterdruckkammer in 6 min bei konstanter Geschwindigkeit auf einen Druck von 180 mm Hg gebracht, nachdem sie mit verschiedenartigen Stoffen zu wechselnden Zeiten vorbehandelt waren. Die Beobachtung der Körpertemperatur bis zum Einschleusen in die Unterdruckkammer ergab, daß alle Stoffe, die die Überlebenszeit in der Unterdruckkammer verlängern, auch die Temperatur senken; daß 2. (von gewissen Ausnahmen abgesehen) die Kurve, die die Überlebenszeit in der Unterdruckkammer zu verschiedenen Zeiten nach der Vorbehandlung mit dem Pharmakon wiedergibt, in Parallelität zum Verlauf der Körpertemperatur unter der Einwirkung dieses Pharmakons steht und daß 3. Verhinderung der Temperatursenkung auch den prophylaktischen Effekt aufhebt. Die Gifte, für welche diese Aussagen zutreffen, sind Cardiazol, Pyramidon, Diphenylhydantoin, Chlorophyll, Äthylalkohol und Gynergen. Bemerkenswert war das Verhalten des Coramins, das bei höheren Dosen eine Steigerung und dann erst eine Senkung der Körpertemperatur bewirkte und dementsprechend nur in der Phase der Temperatursenkung, also verspätet, die Unterdrucktoleranz erhöhte. Die Verhinderung der Temperatursenkung geschah entweder durch Erwärmen der Tiere oder bei Krampfgiften wie Cardiazol und Pyramidon durch kleine Veronaldosen. Bei der Kombination von Veronal mit Chlorophyll kam die Beziehung zwischen Temperatursenkung und Toleranzverlängerung im Unterdruck erst deutlich zum Ausdruck, weil hier durch Veronal die Temperatursenkung verstärkt wurde. Stoffe, die eine reine Temperatursteigerung machen wie Coramin im Anfangsstadium oder Pervitin, bewirken keine Verlängerung der Unterdrucktoleranz oder sogar eine Verkürzung. Bemerkenswert war ferner, daß die schon von Emerson festgestellte stärkere Wirkung des Äthylalkohols im Vergleich zu Barbitursäuren (Luminal) im Sinne unserer Erwartung auf eine stärkere Temperatursenkung durch den Äthylalkohol zurückgeführt werden konnte. Gewisse Beobachtungen (z. B. mit Äthylalkohol und Pyramidon) deuten darauf hin, daß bei zu starker Temperatursenkung das Optimum der Schutzwirkung überschritten werden kann. Eine Bestätigung der Befunde bietet die Beobachtung von Bunge, daß durch Überhitzung von Mäusen auf physikalischem Wege die sog. Höhenkrampfschwelle erniedrigt wird, sowie umgekehrt der Befund von Hall u. Corey, daß durch äußere Kälteeinwirkung rasch abgekühlte Ratten eine größere Höhenfestigkeit aufweisen.

Diskussion. v. Werz: Die Befunde von Flacke fügen sich gut in unsere Kenntnisse über allgemeinen O_2-Mangel ein. Das gilt auch für den kältebedingten O_2-Mangel, der im Bereich mäßiger Auskühlung dadurch entsteht, daß dem verminderten Dissoziationsdruck des Oxyhämoglobins ein regulatorisch vermehrter O_2-Verbrauch gegenübersteht. Im Bereich dieser „Scherensituation" wirken Narkotica nach eigener Erfahrung lebensverlängernd, weil sie, ebenso wie die von Flacke angewandten Pharmaka, die ohnehin auf die Dauer vergebliche Wärmeregulation ausschalten oder herabsetzen.

Da bei den Versuchen von Flacke die Körpertemperatur sinkt, kommt zu dem experimentell erzeugten (exogenen) O_2-Mangel noch die kältebedingte Verminderung der O_2-Spannung (als endogener O_2-Mangel) hinzu. Daß trotzdem die Tiere länger überleben, ist nur scheinbar paradox; es erklärt sich als Resultante höherer arterieller Sättigung einerseits und der Ausschaltung der Gegenregulation andererseits.

Die Anwendung von Kühlgiften erscheint physiologisch reizvoll auch für das Problem des Winterschläfers: Dieser verträgt Abkühlung darum, weil er nicht gegenreguliert, sondern sich bereitwillig auskühlen läßt und so der Scherensituation entgeht. Durch Kühlgifte müßte man also obligatorische Warmblüter gleichsam „auf Zeit" zu Winterschläfern machen können.

A. Dautzenberg (Berlin, Humboldt-Universität): Sulfonamide und Kohlehydratstoffwechsel.

Über Einwirkungen von Sulfonamiden auf den Zuckerstoffwechsel liegen verschiedene klinische und experimentelle Beobachtungen vor, die sich teilweise widersprechen. Wir untersuchten die Beeinflussung der Glykogenbildung in der Leber der hungernden Ratte durch folgende Verbindungen: Sulfanilamid, Sulfamethylpyrimidin, Sulfadimethylpyrimidin, Sulfacetamid, Sulfanilylthioharnstoff, Sulfanilylharnstoff und dessen Methyl-, Äthyl-, n- und Isopropyl-, n- und Isobutyl- sowie Phenylderivat.

Am Anfang und Ende einer 16—18 Std langen Hungerperiode bekamen die Tiere je 1 g/kg der zu prüfenden Substanz per os, dazu beim zweiten Male 10 g/kg Glukose per os. 6 Std später wurden sie getötet und das Leberglykogen nach Good, Kramer u. Somogyi bestimmt. Fast alle Verbindungen hemmen die Glykogenbildung, besonders stark Sulfacetamid, Sulfanilyl-thioharnstoff, das Äthyl-, n-Propyl- und Phenylderivat des Sulfanilylharnstoffs.

Ferner wurden zahlreiche Versuche mit Sulfanilyl-isopropylharnstoff durchgeführt, der eine geringe Toxizität im akuten Versuch aufweist. Kaninchen, die täglich große Dosen über längere Zeit erhielten (bis 50g/kg in 10 Tagen bzw. 74 g/kg in 25 Tagen), zeigten in ihren Blutzuckerwerten keine Abweichung von der Norm. Hingegen wurde die Wirkung von Insulin durch diese Substanz verstärkt, was sich besonders im frühzeitigen Auftreten hypoglykämischer Krämpfe bei relativ höherem Blutzuckerspiegel als im Kontrollversuch äußerte.

Umgekehrt zeigte sich bei intravenöser Belastung mit Glukose nach Vorbehandlung mit Sulfanilyl-isopropylharnstoff ein verzögerter Abfall der Blutzuckerkurve zur Norm.

Es scheint durch einige Sulfonamide eine Zuckerverwertungsstörung hervorgerufen zu werden, über deren genaue Lokalisation im Stoffwechsel noch nichts auszusagen ist.

H. Friebel (Bonn): Über spezifische Anwendungsbereiche des durch Histamin und Antigene hervorgerufenen Meerschweinchenasthmas bei der Arzneimittelprüfung.

Tierexperimentelles Asthma kann man mit Histamin, Acetylcholin und spezifischen Antigenen hervorrufen. Will man Arzneimittelprüfungen mit dem Meerschweinchenasthma durchführen, so wird man entscheiden müssen, ob man 1. ein einziges dieser asthmaauslösenden Mittel für die Lösung aller Fragestellungen heranzieht, ob man 2. für bestimmte Fälle auch eine spezifische Asthmaform wählt, oder ob man 3. es im allgemeinen für gleichgültig hält, welches der asthmogenen Mittel Verwendung findet.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde die Wirkung einer Reihe von Arzneimitteln am Histaminasthma und am allergischen Asthma vergleichend geprüft. Diese Prüfung war allerdings erst möglich, nachdem wir durch Verbesserung der bisherigen Arbeitstechnik langdauernde Anfälle von gewünschter und gleichbleibender Stärke hervorrufen konnten, die im klinisch symptomatischen Bild bis in ihre Einzelheiten vergleichbar waren.

Für die Durchführung derartiger Versuche wurde gemeinsam mit Basold ein Gerät entwickelt, in dessen Versuchsraum das Meerschweinchen Aerosole inhaliert, die asthmaerzeugende und asthmabeseitigende Mittel enthalten.

Arzneimittelprüfungen werden in der Weise durchgeführt, daß bei konstantbleibendem mittelschwerem Asthma ein schon bei der Asthmaeinleitung mitlaufendes Wasseraerosol gegen ein Arzneimittelaerosol ausgetauscht wird oder daß bei konstantbleibendem mittelschwerem Asthma die Arzneimittel unter die Nackenhaut gespritzt werden. Auf diese Weise wurden die kleinsten noch vollwirksamen Arzneimitteldosen von Antihistaminkörpern, Atropin und Brenzkatechinabkömmlingen bestimmt, bei denen es zur völligen Unterdrückung des Asthmas kommt.

Vergleicht man die beim Histaminasthma erforderlichen Arzneimittelmengen mit den beim allergischen Asthma notwendigen, so zeigt sich, daß Antihistaminkörper und Atropin beim allergischen Asthma weniger wirksam sind als beim Histaminasthma. Beim allergischen

Asthma wird die 4—10fache Arzneimittelmenge benötigt. Substanzen aus der Adrenalinreihe verhalten sich bei der vergleichenden Prüfung anders als die Antihistaminkörper und das Atropin, sie sind beim Histaminasthma und beim allergischen Asthma gleich wirksam.

Erwartet man daher bei Arzneimittelprüfungen Aufschluß über die pharmakologischen Eigenschaften von Brenzkatechinabkömmlingen, so eignet sich das Histaminasthma so gut zur Testung wie das allergische Asthma. Für die Testung von Körpern, die spezifisch gegen Acetylcholin gerichtete Wirkungen entfalten, wird man das durch Acetylcholin ausgelöste tierexperimentelle Asthma bevorzugen. Sollen derartige Substanzen in der Asthmatherapie Verwendung finden, so muß das allergische Asthma als Arbeitsmodell gewählt werden. Für Untersuchungen über den Grad der Antihistaminwirkung eines spezifischen Antihistaminkörpers eignet sich das Histaminasthma des Meerschweinchens; versucht man seine Tauglichkeit beim allergischen Asthma zu erfahren, so prüft man sie am allergischen Meerschweinchenasthma. Will man eine pharmakologisch noch unbekannte Substanz analysieren, so wird man sie vergleichend an den verschiedenen Asthmatypen austesten.

Man kann also prinzipiell keiner Arbeitsweise den Vorzug geben, da jede für spezielle Zwecke ihre besonderen Vorzüge hat.

Diskussion. Alberty: Registrierung der Atmung mittels Luftkissens führt zu vergleichbaren Kurvenbildern und erlaubt gleichzeitige Verwendung mehrerer Tiere in einem Versuch. — Bei Zufuhr antiasthmatisch wirksamer Substanzen als Aerosol sind quantitative Dosierungsangaben schwierig auf Grund der Einflüsse veränderlicher physikalischer Faktoren auf die Teilchengröße.

v. Brücke: Die gleichzeitige Vernebelung von Histamin und spasmolytischen Mitteln ist ein erheblicher Fortschritt und eignet sich besonders zur Bestimmung relativer Wirksamkeiten.

Schlußwort. Friebel: Zur Frage von Alberty, was an der Arbeitsweise gegenüber schon bekannten Methoden zur Erzeugung des Asthmas beim Meerschweinchen neuartig sei, zwei Beispiele:

1. Ein langdauerndes und in der Stärke lenkbares Histaminasthma, wie es von uns regelmäßig hervorgerufen wird, ist unseres Wissens noch nicht beschrieben worden. Es gibt die Möglichkeit, mit Histamin, und in gleicher Weise bei sensibilisierten Tieren mit ihrem Antigen, Krankheitsbilder zu erzeugen, die in ihrem Symptomenbild vergleichbar sind und daher auch vergleichende Prüfungen hinsichtlich ihrer pathophysiologischen Einzelheiten und Beeinflußbarkeit durch Arzneimittel erlauben.

2. Bei der kymographischen Registrierung der Atmung des Tieres wird nicht, wie üblich, eine Volumenschreibung durchgeführt, sondern aus dem Frequenzgemisch, das bei der Atmung der umgebenden Luft mitgeteilt wird, werden hauptsächlich jene Anteile registriert, die das Typische der im Anfall veränderten Atmung wiedergeben. Auf diese Weise kann man die Stärke der Dyspnoe sehr gut überwachen.

W. Schmid u. W. Kunz (Tübingen): Wirkungsunterschiede zwischen Urethanen und anderen Narkoticis am Zellstoffwechsel von Hefe und Ascitestumor.

Bei 2.10^4 Zellen pro mm^3 und 22° C ist die anaerobe Gärung von Bäckerhefe und Ascitestumor etwa gleich groß, die Atmung der Hefe ungefähr doppelt so hoch wie die der Tumorzellen; das Verhältnis aerobe Gärung/Atmung beträgt bei Hefe 2/1, beim Ascitestumor 4/1, dessen hohe Glykolyse auch von Warburg hervorgehoben wird.

Auf den Stoffwechsel der beiden Zellarten wirken die von uns geprüften Agentien prinzipiell gleichartig:

Alkohole. Die Halbwertskonzentrationen vom Äthyl- bis zum Butylalkohol sind für die Hemmung der anaeroben Gärung etwa halb so groß wie für die der Atmung; das gleiche gilt auch für die aerobe Gärung. Die bei der Hefe unter O_2- und Glukoseanwesenheit erfolgende Aufnahme von anorganischem Phosphat ist parallel mit der Gärungshemmung herabgesetzt, die (anaerobe) Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid ist bei 50%iger Atmungshemmung noch normal.

Urethane. Die Halbwertskonzentrationen von Methyl- und Äthylurethan sind dagegen für die Hemmung von anaerober Gärung und Atmung etwa gleich groß. Wohl infolge dieser schwächeren Wirkung auf die Gärung läßt sich bei 10—50%iger Hemmung der Atmung eine auf Grund des Pasteur-Meyerhof-Effektes entstehende Steigerung der aeroben Gärung nachweisen. Bei den gärungssteigernden Konzentrationen ist die Phosphataufnahme der Hefe erhöht, die TPT-Reduktion gehemmt.

Diese Sonderwirkung der Urethane verschwindet bei N-Substitution (Phenyl-, Acetylurethan) und bei Derivaten mit stärker narkotisch wirkenden Alkoholen (Methylpropylcarbinol, Trichloräthanol).

P. Stern u. L. Sprung (Serajewo): Über die Prüfung der antileukämischen Substanzen an der Hühnerleukose.

Jarmay u. Balo[1] haben gezeigt, daß sich bei Hühnern durch Maretin (Metatolnylhydrazid der Carbaminsäure), also durch ein obsoletes Antipyreticum, eine Leukose myeloischen Charakters hervorrufen läßt.

Wir haben diese Experimente wiederholt und konnten die Richtigkeit der Ergebnisse vollauf bestätigen. Jarmay u. Balo verwandten 0,1 cm^3 einer 0,25%igen Maretinlösung pro Woche. Mit dieser Dosis kann man die erwähnte Leukose nach 6—8 Wochen hervorrufen. Wir verwandten ebenfalls 0,25%ige Lösung, aber 0,5 cm^3 pro Woche, und erhielten regelmäßig eine erhöhte Anzahl von Leukocyten schon nach 14—20 Tagen. Diese Leukose hält monatelang an. Wir halten jetzt „leukämische" Hühner bereits ein ganzes Jahr unter Beobachtung.

[1] Jarmay u. Balo: Dtsch. tierärztliche Wschr. **46**, 593 (1938).

Die Anzahl der Leukocyten steigert sich bisweilen sogar auf 500000 und bleibt, von geringen Schwankungen abgesehen, auf der bestimmten Höhe. Bisher haben wir keinen spontanen Abfall der Leukocyten bei schon bestehender Leukose beobachtet.

Bei der schon manifesten Leukocytose finden wir im Blutbild 60-bis 70% Granulocyten mit einer großen Anzahl junger Elemente mit basophilem Protoplasma und großem schwammigen Kern. Bei den reifen Elementen bestand eine große Zahl eosinophiler Zellen.

An solchen „leukämischen" Hühnern erprobten wir bekannte antileukämische Substanzen sowie einige Mitosegifte. Wir verwandten Äthyl-Urethan (1%—0,5 cm^3); Aminopterin (0,05 mg per os); Aminolost (1 mg/kg i. m.); Colchicin (0,5 mg/kg i. m.). Dabei untersuchten wir auch Phenyl-Urethan und Valin-Äthyl-Ester sowie Glykokoll-Methyl und Äthyl-Ester. Die beiden ersten Substanzen, d. h. Urethan und Aminopterin, brachten die Leukocyten auf den Normalstand. Gleichartig wirkte auch Phenyl-Urethan, wohingegen die übrigen erwähnten Substanzen wirkungslos blieben. Demnach stimmen unsere Befunde mit den klinischen Erfahrungen an Menschen überein. Wir müssen aber auch noch erwähnen, daß auch Röntgenstrahlen die Zahl der Leukocyten derartiger Hühner herabmindern.

Diskussion. Heubner erinnert an seine Warnung vor Maretin als Arzneimittel wegen der von ihm beobachteten anämisierenden Wirkung und den daran anschließenden literarischen Streit mit Dreser (Farbenfabriken Bayer & Co., Elberfeld). Die jetzige Benutzung der Substanz zur systematischen Erzeugung schwerer Anämien bietet retrospektiv einen gewissen Reiz.

Enders: Bei Untersuchung antileukämischer Substanzen kann speziell die Wirkung auf Lymphocytenvermehrungen festgestellt werden, wenn man eine quantitativ dosierbare Lymphocytose durch Xylanester hervorruft. (Untersuchungen mit Tecklenburg.)

G. Wilhelmi (Basel): Über den Einfluß antiphlogistisch wirkender Pharmaka auf den Regenerationsvorgang bei Planaria gonocephala und Amblystoma mexicanum.

In Anbetracht der Tatsache, daß einige Pharmaka mit antimitotischen bzw. regenerationshemmenden Eigenschaften wie Colchicin, Aminopterin und N-Lost eine antiphlogistische Wirkung besitzen, legten wir uns die Frage vor, ob umgekehrt auch Antiphlogistica die Regeneration zu beeinträchtigen vermögen.

Zur Prüfung der Regenerationsleistung eignen sich Planarien und Axolotl als einfache Testobjekte.

Bei Planaria gonocephala kann die Regenerationsleistung durch Feststellung der Tierzahl, die am 7. Tag nach der Dekapitation den Kopf bis zum Stadium des Wiedererscheinens der Augen regeneriert hat, bestimmt werden. Die Tiere werden

48 Std lang schwachen Konzentrationen der interessierenden Präparate ausgesetzt, wobei z. B. die regenerationshemmende Wirkung von Colchicin und Trypaflavin deutlich zur Darstellung zu bringen ist.

Beim Test am Axolotl werden am Schwanzsaum der 20—30 g schweren pigmentfreien Molche je 2—3 runde Löcher eingestanzt, deren Verheilungszustand am 10. Tag festgestellt wird. Die Mitosegifte und Antiphlogistica wurden meist durch intraperitoneale Injektion zugeführt.

Bei Planarien zeigten die Pyrazole Dimethylaminoantipyrin (Dipyrin), Novalgin, Melubrin und Butazolidin-Natrium (Dioxodiphenylbutylpyrazolidin) praktisch keine, Antipyrin eine sehr geringe regenerationshemmende Wirkung. Auch Natrium-Salicylat und Atophan waren unwirksam. Eine gewisse Hemmung der Regeneration konnte durch Cortison und die Antihistamine (AH) Promethazin, Mepyramin, Antergan, Phenindamin und Synopen erzielt werden. Einschränkend ist allerdings zu erwähnen, daß die AH die therapeutische Breite von Colchicin und Trypaflavin nicht erreichten. Die Präparate wurden jeweils in mehreren Konzentrationen vom unwirksamen bis zum toxischen Bereich angewendet.

Beim Axolotl reduzierten Colchicin, N-Lost und Trypaflavin in den gewählten Dosen die Regeneration beträchtlich, wobei die mit N-Lost und Trypaflavin behandelten Tiere allerdings einige Tage bis Wochen nach Abschluß der Versuche ad exitum kamen. Die Wundheilung wurde auch durch 15—25 mg/kg Cortison pro die, besonders deutlich durch ACTH (10 mg/kg) und ferner auch durch die AH Synopen, Promethazin und am stärksten durch Antergan (15 mg/kg) gehemmt. Die Pyrazolpräparate Dipyrin und Butazolidin (50—150 mg/kg) — mit Ausnahme von Butazolidin in der leicht toxisch wirkenden Dosis von 150 mg/kg — hatten keinen nennenswerten Einfluß auf die Regeneration.

Orientierende Versuche an Ratten, denen in Narkose runde Stücke der Rückenhaut excidiert wurden, zeigten, daß die Wundheilung durch lokale Applikation von Synopen als 3- und 5%ige Salbe deutlich verzögert wurde. 3- und 5%ige Butazolidinsalben hatten hingegen nur eine sehr geringe Hemmwirkung auf die Hautregeneration.

In der Literatur sind am Hund und Kaninchen nach chronischer Verabreichung von AH. Gewichtsverlust und Hodenatrophie sowie Unterdrückung der durch Desoxycorticosteron erzeugbaren Knötchen im Herzmuskel und in der Gefäßwand und ferner ein bakterio- und fungistatischer Effekt beschrieben worden.

Zwischen den AH und den Hormonen Cortison sowie ACTH bestehen insofern Beziehungen, als beide Präparatgruppen antiphlogistisch, antipyretisch und regenerationshemmend wirken, die Hormone jedoch in sehr viel stärkerem Ausmaß als die AH. Außerdem fördern beide die Ausbreitung von experimentellen und klinischen Infekten. Die Beziehungen zwischen den AH und den Hormonen lassen sich nur teilweise durch die von Halpern und Benos nach AH-Applikation festgestellte Hypophysen- und Nebennierenrinden-Stimulation erklären. Auch von den Pyrazolen wird ja eine Anregung dieses Systems angenommen, wobei jedoch eine sichere Hemmwirkung auf die Regeneration bisher nicht festgestellt werden konnte.

Wenn auch die wachstumshemmende Wirkung der AH bei Verwendung therapeutischer Dosen praktisch nicht in Erscheinung tritt, so stellen diese Beobachtungen, sowie die überwiegend negativen Resultate mit den Pyrazolen, im Vergleich mit den Wirkungen der Hormone vielleicht doch einen kleinen Beitrag zum Verständnis des komplexen Wirkungsmechanismus der Antiphlogistica dar.

Diskussion. Zetler fand bei Versuchen am Kaninchenohr, daß durch die einmalige allgemeine Vorbehandlung mit einem Antihistaminicum die endgültigen Gewebsdefekte nach lokaler Erfrierung um 78% verringert wurden; gleichzeitig war jedoch die Dauer des Demarkationsprozesses signifikant von 23,8 Tagen auf 35,6 Tage verlängert. Zetler glaubt, daß nunmehr zur Erklärung dieses scheinbar paradoxen Befundes außer der negativen Wirkung der Antihistaminica auf die Phagocytose und des reticuloendothelialen Systems auch der von Wilhelmi gezeigte regenerationshemmende Effekt der Antihistaminkörper herangezogen werden kann.

Brock: Die Befunde von Wilhelmi sind insofern von praktischer Bedeutung, als eine ganze Reihe von AH-Präparaten in Form von Salben für die Therapie chronisch entzündlicher Hauterkrankungen im Handel sind. Es ist zu postulieren, daß diese in Abhängigkeit von ihrer chemischen Struktur in ihrer Wirkung auf die Regenerationsvorgänge untersucht werden und anschließend die schädigenden Substanzen von einer derartigen Medikation ausgeschaltet werden. Dies um so mehr, als bei Studien an der Zoologischen Station in Neapel bei verschiedenen Gruppen von AH-Substanzen eine starke cytostatische bzw. cytotoxische Wirkung nachgewiesen werden konnte (befruchtete Seeigeleier). Die Reversibilität der Wirkung war gering. Auch im Stoffwechsel (Warburg) riefen diese Substanzen eine ausgesprochene „Schädigungsreaktion" hervor. Darüber hinaus ist aus der Praxis ja auch eine mehr oder weniger starke Reizwirkung bekannt, die sich auch bei lokaler Applikation auf die Haut in Unverträglichkeit und Allergisierung äußert.

H. Kleinsorg (Göttingen): Zur intravasalen Anwendung der mehrwertigen Alkohole 1,3-Butylenglykol und 1,2-Propylenglykol.

Nach einem Hinweis auf die experimentellen Ergebnisse Loesers und seiner Mitarbeiter, wonach sich vor allem jene mehrwertigen Alkohole durch eine relative Ungiftigkeit auszeichnen, die neben der primären eine sekundäre Alkoholgruppe aufweisen, wird eine andere Eigenschaft der Glykole diskutiert: ihre Eignung als Lösungsmittel für verschiedene wasserunlösliche Pharmaka, wie z. B. für bisher in öliger Lösung nur intramuskulär injizierbare Steroidhormone. Nachdem verschiedene Autoren die relative Ungiftigkeit einiger mehrwertiger Alkohole auch bei langdauernder und häufiger Verabfolgung beschrieben hatten, schien eine nähere Analyse der nach raschen, intravenösen Injektionen ablaufenden Kreislaufregulationen notwendig zu sein, um dabei eventuell auch die Kautelen für eine Anwendung der Glykole als Lösungsmittel für intravenös injizierbare Pharmaka ableiten zu können.

Die an Hunden in Morphin-Pernoktonnarkose durchgeführten Experimente erfolgten dabei mittels einer kombinierten Anwendung von fortlaufender photoelektrischer Blutdruckregistrierung und Durchblutungsmessung in verschiedenen Organbezirken. Aus den vier am wenigsten toxischen Vertretern dieser Gruppe — 1,2-Propylenglykol, 1,3-Butylenglykol, 1,2,4-Butantriol und Glycerin — wurden die beiden erstgenannten ausgewählt. Die außerordentlich hohe Viscosität des 1,2,4-Butantriols ließ diese Substanz weniger zu einer intravasalen Anwendung geeignet erscheinen. Das Glycerin wurde wegen der hier auch nach parenteraler Applikation kleinerer Dosen beobachteten Hämoglobinurie (Bornmann) nicht berücksichtigt.

Nach Überschreitung einer Schwellendosis (0,12 –0,15 cm^3/kg Körpergewicht in den vorliegenden Untersuchungen) findet sich nach einer rasch durchgeführten intravenösen Injektion einer der beiden Substanzen eine von der Größe der zugeführten Dosis abhängige Senkung des arteriellen Druckes. Parallel hierzu geht ein weitgehend druckpassiv bedingtes Verhalten der Durchblutung in den verschiedenen Organbezirken. Der Effekt ist bei gleichbleibender Dosis auch bei mehreren Wiederholungen gleichstark, nur gelegentlich wird er etwas schwächer. Zu den bisherigen Anschauungen Hanzliks und Schübels, deren Deutung der Drucksenkung entweder einen zentralnervösen Angriffspunkt (1,2-Propylenglykol, Hanzlik) oder eine „Herzschädigung als Folge einer Widerstandserhöhung durch Viscositätssteigerung" (Glycerin, Schübel) annehmen, Faktoren, die offenbar erst bei höheren, toxischen Dosen eine Bedeutung erlangen, kommt als Ursache für die Drucksenkung eine dritte Möglichkeit, ein Angriffspunkt der Glykole in der Peripherie, und zwar direkt am Gefäß selbst. Dies geht aus den Versuchen hervor, in denen bei Reduzierung der Dosis nur noch eine Mehrdurchblutung in der Peripherie beobachtet wird. Intravenöse, wie lokal intraarteriell seitenständige Gaben führen hier zu gleichen Ergebnissen: Mehrdurchblutung ohne Änderung des arteriellen Druckes, d. h. aber Widerstandsabnahme in der Peripherie durch Erweiterung der kleinen Gefäße. Für diese Beobachtung kann der gegenüber dem Blut höheren Viscosität der beiden Glykole eine ursächliche Bedeutung nicht zukommen, ihr Effekt müßte dem tatsächlich gemessenen entgegengerichtet sein. In allen Experimenten war bei Anwendung gleicher Dosen das 1,2-Propylenglykol stets stärker wirksam als das 1,3-Butylenglykol. Diese unterschiedlich starke Wirkung der beiden Substanzen dürfte zum Teil auf der unterschiedlichen Molekülgröße beruhen (Molekulargewicht 1,2-Propylenglykol 82, 1,3-Butylenglykol 98). Für die praktische Nutzanwendung fällt dieser Wirkungsunterschied aber nicht ins Gewicht, da, wie sich in weiteren Untersuchungen zeigen ließ, bei einer gleichmäßigen Verteilung der Injektion auf mehrere Minuten Blutdruck und Durchblutung völlig

unbeeinflußt bleiben und somit alle unerwünschten Nebenwirkungen auf den Kreislauf vermieden werden können.

Die Eignung der Glykole als Lösungsmittel ist neben einer möglichen Ausweitung der therapeutischen Anwendung von in Glykolen gelösten Substanzen vor allem dort von Interesse, wo es gilt, unabhängig von dem bei intramuskulärer Injektion unbekannten Verhältnis von Resorption, Umbau und Ausscheidung Wirkungseintritt und schnell ablaufende Wirkungen in Glykolen lösbarer Pharmaka zu untersuchen.

R. Kopf (Münster/Westf.): Resorption von Arzneistoffen und 1,3-Butandiol.

Es wurde die Frage geprüft, ob 1,3-Butandiol ebenso wie andere viscöse Stoffe die Resorption von Arzneimitteln und Farbstoffen hemmt, wenn diese Substanzen in 1,3-Butandiol gelöst zur Anwendung kommen. Dabei wurde gefunden, daß die Aufnahme und die Ausscheidung von 4-Methyl-2-thiouracil bei Verwendung von 1,3-Butandiol als Lösungsmittel verzögert wird. Entsprechend verhält sich der Farbstoff Phenolrot. Auch diese Substanz wird bei Lösen in 1,3-Butandiol in den ersten Stunden nach der Applikation vermindert ausgeschieden. Weiterhin sprechen für eine resorptionshemmende Wirkung von 1,3-Butandiol die Beobachtungen, daß die nach subcutaner Injektion von wäßrigem Prontosil übliche Rotfärbung der Haut von Mäusen bei Verwendung von 1,3-Butandiol als Lösungsmittel wesentlich später eintritt und zweitens, daß sonst tödliche Dosen Cardiazol und Strychnin weder Krämpfe noch den Tod der Versuchstiere bewirken, wenn die Substanzen in 1,3-Butandiol gelöst injiziert werden.

Über das Zustandekommen des resorptionsverzögernden Effektes von 1,3-Butandiol ist zur Zeit zu sagen, daß das wasserlösliche Glykol bei Injektion in das Gewebe vermutlich hier zunächst verdünnt und dann als isotone, wäßrige Lösung vom Organismus aufgenommen wird. Die in 1,3-Butandiol gelösten Substanzen werden dementsprechend langsamer resorbiert und erscheinen verspätet in Blut und Harn. Diese Auffassung gründet sich in erster Linie darauf, daß bei Verwendung einer wäßrigen Butandiollösung die resorptionshemmende Wirkung ausbleibt. Schließlich wird die hier vertretene Vorstellung dadurch gestützt, daß während der Resorptionszeit bei all den Tieren die Erythrocytenzahlen im Blute erhöht sind, die unverdünntes 1,3-Butandiol erhalten haben, und zweitens, daß die von den Versuchstieren ausgeschiedene Harnmenge in den ersten Stunden nach der Injektion gegenüber der der Vergleichstiere wesentlich vermindert ist. In Verbindung mit den übrigen Ergebnissen weisen auch diese beiden Nebenbefunde auf ein vorübergehendes Abwandern von Blut- und Gewebswasser an den Applikationsort des Glykols hin.

F. Meyer (Hamburg): Zur Pharmakologie neuer Phosphorsäureester.

Es wurde über die miotische Wirkung von 8 halogenhaltigen Alkylestern der o-Phosphorsäure berichtet, die von W. Perkow synthetisiert wurden [vgl. W. Perkow, K. Ullerich u. Fr. Meyer, Die Naturwissenschaften **39**, 353 (1952)]: Dimethyl- (A 1), Diäthyl- (A 2), Diisopropyl- (A 3) und Diisobutyl*dichlorvinylphosphat* (A 4) sowie Dimethyl- (B 1), Diäthyl- (B 2), Diisopropyl- (B3) und Diisobutyl*tetrachloräthylphosphat* (B 4). Infolge des dem Physostigmin bzw. dem Mintacol analogen Wirkungsmechanismus sind die Unterschiede in der Wirksamkeit viel mehr quantitativer als qualitativer Natur. B 1 1:1000 verursacht eine prompt eintretende Pupillenverengerung um etwa die Hälfte des Ausgangswertes, die aber sehr schnell wieder abklingt. Schon nach 2 Std beträgt die Pupillenweite wieder fast 8 mm. Demgegenüber ist der Wirkungseintritt nach B 2-Gaben nur wenig verzögert, das Maximum wird innerhalb der ersten 60 Min. erreicht. Die miotische Wirkung ist sehr intensiv und von langer Dauer. Ein Vergleich zwischen Mintacol und B 2, der mit äquimolaren Lösungen an 10 Kaninchen durchgeführt wurde, ergab keinen nennenswerten Unterschied. B 3 ist ebenfalls langwirkend, der Wirkungseintritt ist jedoch erheblich verzögert und die Intensität der Miose im Vergleich zu B 2 sehr viel geringer. B 4 ist im Gegensatz zu den bisher genannten selbst bei einer Konzentration von 1:250 unsicher in der Wirkung. Bei 3 von 5 Kaninchen trat kein, bei den übrigen 2 nur ein sehr geringgradiger miotischer Effekt ein, dessen Maximum erst nach 3 Std erreicht wurde. Hieraus ergibt sich, daß die Dauer der Wirkung mit steigender Kettenlänge von B 1 über B 2 und B 3 nach B 4 zunimmt, wobei allerdings die geringen Unterschiede in der Wirksamkeit nach mehr als 24 Std praktisch bedeutungslos sind. Die Wirkungsintensität erreicht offensichtlich beim Diäthyltetrachloräthylphosphat (B 2) ein Optimum. Ähnliche Verhältnisse liegen in der Gruppe der Dichlorvinylphosphate vor. Die Wirkung tritt nach Verabfolgung von A 1 und A 2 schnell, nach A 3 etwas langsamer und nach A 4 nur sehr verzögert ein. Die Dauer der Miose ist nach A-1- und A-2-Gaben geringer als nach Instillation von A 4 oder A 3. Das Optimum der Wirksamkeit — auch bezüglich der Dauer der Wirkung — liegt beim Diisopropyldichlorvinylphosphat (A 3). Eine vergleichende Untersuchung zwischen A 3 und Mintacol ergab, daß eine A-3-Lösung von 1:6000 in der Wirkungsintensität bei weitem nicht an diejenige einer entsprechenden Mintacollösung heranreicht. Wurde jedoch A 3 in einer Konzentration von 1:1000 mit Mintacol verglichen, so war die durch A 3 bewirkte Pupillenverengerung ebenfalls maximal, aber die Dauer der Wirkung war gegenüber Mintacol um etwa 3 Std verlängert. Wegen der recht guten Verträglichkeit dieser Verbindung und des relativ milden Wirkungseintritts erscheint die genannte A 3-Konzentration durchaus gerechtfertigt. Die vorgetragenen Ergebnisse

geben Veranlassung, die genannten Ester (und verwandte Verbindungen) weiter zu untersuchen, zumal A 3 und B 2 etwas weniger giftig sind als Mintacol (LD^{50} an Mäusen) und außerdem recht gut vertragen werden.

Diskussion. Brücke: Nach der von Dale eingeführten Nomenklatur gibt es zwar „cholinergische Nervenfasern" (die bei der Erregung Acetylcholin produzieren), aber es gibt keine „cholinergischen" Substanzen.

W. Schoetensack (Würzburg): Bienengift und Bernsteinsäuredehydrierung.

Bienengift mindert die Bernsteinsäuredehydrierung im Rinderhirn-Homogenat noch in der Konzentration 10^{-8}. Die 10000fach höhere Konzentration unterbindet die Dehydrierung noch nicht vollständig. Durch Natriumfluorid wird der Effekt aufgehoben. Das Gift enthält aber weder eine alkalische noch eine saure Phosphatase oder eine ATP-ase. Analoge Schlangengiftwirkungen auf die Bernsteinsäuredehydrierung dürften also kaum auf Phosphataseeffekten beruhen. Viel wahrscheinlicher liegt die Ursache in einer Lecithase A. Hierfür spricht, daß die wirksame Komponente sich in der elektrophoretischen Fraktion II (vgl. Vortrag E. Habermann) des Bienengiftes findet und daß sowohl die Minderung der Bernsteinsäuredehydrierung als auch die Spaltung vergleichbarer Lecithinmengen mit gleicher Geschwindigkeit verläuft. Es liegt aber keine reine Lysocithinwirkung vor; denn durch Zusatz von Lecithin oder Lysocithin wird die Bienengiftwirkung auf die Bernsteinsäuredehydrierung im Hirnhomogenat nicht verändert. Es ist anzunehmen, daß das Gift einen für die Funktion des Fermentes wesentlichen Faktor durch seine Lecithase zerstört. Die durch Bienengift verursachte Aktivitätsminderung der Bernsteinsäuredehydrase ist also streng zu trennen von anderen bekannten Hemmungen des Fermentes, die mindestens zum Teil als „competitive inhibition" zu betrachten sind. Da selbst relativ hohe Giftkonzentrationen die Dehydrierung nicht völlig aufheben, sind bei der Bernsteinsäuredehydrierung im Rinderhirn wohl noch Faktoren beteiligt, die durch das Gift nicht beeinflußt werden.

Diskussion. Fleckenstein: Die Ergebnisse über die Beziehung zwischen der Bienengift-Konzentration und der hemmenden Wirkung auf die Dehydrasen stehen mit eigenen Beobachtungen an Muskelpräparaten von Fröschen und Ratten in guter Übereinstimmung. Die hemmende Bienengift-Grenzkonzentration für die Bernsteinsäure-Dehydrierung in Froschmuskel-Brei war etwa 1 : 50000000. Bei diesen Muskelpräparaten wird das Maximum der Hemmung aber erst nach mehrstündiger Inkubation erreicht. Als wir die Schutzwirkung von NaF gegenüber dem dehydrasenhemmenden Faktor des Bienengifts fanden, lag der Gedanke nahe, daß dieser Faktor irgendein phosphatabspaltendes Fermentprinzip sei. Der Effekt von Bienengift auf die Hitzekoagulation des Eidotters wird außer durch NaF auch durch andere Phosphatase-Inhibitoren (Oxalat, Citrat, Phloridzin) gehemmt. Die

neuen Befunde von Neumann u. Mitarb., wonach auch die Bienengift-Lecithase (als Phospholipase) durch NaF hemmbar ist, machen aber jetzt doch wahrscheinlich, daß der dehydrasenhemmende Faktor des Bienengifts zur Lecithase Beziehung hat. Auch Kay (Mitarbeiter von H. A. Krebs) fand neuerdings, daß Bienengift — im Gegensatz zu zahlreichen Schlangengiften — keine ATP-ase enthält.

E. Habermann (Würzburg): Untersuchungen zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Bienengift.

Bienengift, das über das Pikrat gereinigt ist, läßt sich papierelektrophoretisch in zwei kathodisch wandernde Fraktionen auftrennen, die sich getrennt eluieren und in Substanz gewinnen lassen. Die pharmakologischen bzw. biochemischen Wirkungen des Bienen-Gesamtgifts verteilen sich auf sie in unterschiedlicher Weise. Die elektrophoretisch scharf umschriebene Fraktion II baut Lecithin ab, verzögert die Hitzekoagulation des Eidotters, mindert die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrase und inaktiviert Thrombokinase. Die elektrophoretisch breitere Fraktion I dagegen führt am Froschsartorius und am isolierten Froschherzen zur Kontraktur, am Kaninchenauge zu Reizerscheinungen; sie hämolysiert gewaschene Erythrocyten. Die Hämolyse durch Bienen-Gesamtgift scheint ein komplexer Vorgang zu sein, an dem beide Fraktionen des Bienengifts beteiligt sind. Die bei Mäusen i. v. tödliche Dosis von F I liegt in der gleichen Größenordnung wie die von Bienen-Gesamtgift. Zink hemmt alle daraufhin untersuchten Bienengiftwirkungen, Heparin und Thrombocid dagegen inaktivieren ebenso wie „Aufbrauch" an Froschmuskeln vorwiegend Fraktion I, während Fraktion II durch Fluorid stärker gehemmt wird. Es wird angenommen, daß diese Wirkungen der Fraktion II auf *einem* Ferment, der Lecithase A des Giftes, beruhen. Die Frage der Einheitlichkeit von Fraktion I ist noch offen. Bei papierelektrophoretischen und pharmakologischen Untersuchungen an Schlangengiften zeigten sich wesentlich kompliziertere Verhältnisse.

Diskussion. Herz: Der Aufstellung über die Wirkungen der beiden Fraktionen des Bienengiftes ist zu entnehmen, daß die entzündungserregende Komponente nicht mit der dehydrasenhemmenden gekoppelt ist. Eigene Versuche an einer Reihe von Chinonen und Naphthochinonen zeigten, daß die Hemmung der Bernsteinsäuredehydrase *nicht* mit der entzündungserregenden Wirkung (Wirkung auf die Capillaren), dagegen relativ gut mit ihrer schmerzerregenden Fähigkeit übereinstimmt.

W. Jaeger (Heidelberg): Experimentelle Untersuchungen über den Antagonismus von Zink und dehydrasenhemmenden Toxinen am Auge.

Zink wirkt am Auge des Kaninchens als Antagonist von Bienengift und Schlangengiften, ähnlich wie dies Fleckenstein schon für den Dehydrasenversuch und den Eidotterkoagulationstest gefunden hatte.

Durch die vorgelegten Untersuchungen soll nun am gleichen Organ in vivo die Entzündungserregung, in vitro die Dehydrasenhemmung demonstriert werden. Die Hornhaut eignet sich zu diesem Zweck besonders gut: In vivo lassen sich Entzündungsvorgänge mit dem HH-Mikroskop in allen Einzelheiten verfolgen. In vitro sind das stoffwechselaktive Epithel und Endothel den Indicatorstoffen gut zugänglich, ohne daß das Gewebe homogenisiert werden muß. Außerdem ist die Hornhaut auch nach Excision etwa einem überlebenden Organ vergleichbar (Hornhauttransplantation!). Indicator der Dehydrasenaktivität war TTC.

Erste Methode: Kaninchen in vivo mit Gift bzw. mit Gift + Zink behandelt. Entstehung der Keratitis beobachtet. Hornhaut excidiert, jeweils nach 1 und 6 Tagen. Dehydrasenaktivität der vergifteten Corneae (mit Keratitis) ergab Hemmung von 75—80%. Vergiftete Corneae mit Zink (ohne Keratitis) zeigen volle Dehydrasenaktivität und unterscheiden sich nicht von den normalen Kontrollen.

Zweite Methode: Excidierte überlebende Rindercorneae im jeweils zu prüfenden Gift inkubiert, anschließend Bestimmung der Dehydrasenaktivität im TTC. Es zeigt sich ein Zusammenhang zwischen dehydrasenhemmenden und entzündungserregenden Konzentrationen an der Hornhaut für Bienengift, Kobra und Sepedon haemachates. Ammodytes scheint in das intakte Cornealgewebe nicht eindringen zu können. Trotz Dehydrasenhemmung im Muskelbrei ist es gegenüber den Dehydrasen der überlebenden Cornea wirkungslos. Am Auge des Kaninchens macht Ammodytes keine Keratitis. — Die blockierende Wirkung von Zink gegenüber Bienengift und Schlangengiften läßt sich auch an den Dehydrasen der überlebenden Cornea zeigen. Dabei wird das Gift durch das Zink sicher nicht zerstört. Ein Zink-Giftgemisch erhält bei Gegenwart eines starken Zinkkomplexbildners seine alte Giftaktivität wieder zurück.

Vom praktischen Standpunkt interessieren noch die zeitlichen Verhältnisse bei der Giftinaktivierung durch Zink: Zinkvorbehandlung schützt die Cornea zwar nicht völlig, aber weitgehend. Nachfolgende Zinkbehandlung muß innerhalb der ersten 5 min einsetzen, um eine sichere Schutzwirkung zu entfalten. Am Eidotter kann die Giftwirkung noch länger durch nachträgliche Zinkgabe inaktiviert werden.

Einen ähnlichen Schutzeffekt wie das Zink zeigen auch die Antihistaminika. Am lebenden Kaninchenauge, an der überlebenden Cornea und am Eidotter gelingt der Nachweis der antagonistischen Wirkung gegenüber Bienengift und Schlangengiften. — Der Antagonismus zwischen Gift und Fluorid, der im Eidotter und auch an den Dehydrasen der überlebenden Cornea nachweisbar ist, läßt sich dagegen am Kaninchenauge nicht reproduzieren. Andere Schwermetallsalze, die in vitro die genannten Gifte — weniger vollständig als das Zink — inaktivieren,

können am Auge das Zink nicht ersetzen. Sie wirken entweder selbst reizend oder haben sonst unerwünschte Nebenwirkungen. Das Zink wird jedoch in den zur Giftinaktivierung benötigten Konzentrationen am Auge gut vertragen. So wird hier vielleicht von der Bienengift- und Schlangengiftforschung her ein ganz unerwartetes Licht auf die altbewährte Zinktherapie der Augenheilkunde geworfen.

Diskussion. Fleckenstein: Daß stark dehydrasenhemmende Gifte Entzündungswirkung besitzen, ist eine Regel, von der wir bisher keine Ausnahme gefunden haben. Dagegen sind nicht alle Dehydrasengifte stark schmerzwirksam. Den Substanzen der Lost-Gruppe sowie den Monohalogenacetaten fehlt z. B. ein stärkerer sensibler Reizeffekt. Besonders ausgeprägte Schmerzwirkung haben die Augenreizstoffe. Diese hemmen durch Angriff an den Dehydrasen des Krebsschen Citronensäure-Zyklus vor allem die Zellatmung. Bei Monojodessigsäure und bei den Lostkörpern wird im allgemeinen die Glykolyse stärker betroffen. Eine hohe Reaktionsgeschwindigkeit und ein gutes Eindringungsvermögen in den Nerven scheinen außerdem Voraussetzung für eine starke Schmerzwirkung zu sein. Die Regel: „*Dehydrasengifte sind Entzündungsgifte*" ist nicht umkehrbar; denn die Digitaliskörper sowie Colchizin verursachen z. B. Entzündung ohne Dehydrasenhemmung. Noch irriger wäre die Auffassung, daß jede schmerzerregende Substanz durch Hemmung der Zellatmung oder der Dehydrasen wirkt: Veratrin, KCl, RbCl sowie Ca^{++}-entionisierende Substanzen, Histamin, Nicotin usw. erzeugen z. B., intracutan gegeben, Schmerz ohne Beeinträchtigung dieser Prozesse. Gemeinsames Charakteristikum schmerzerzeugender Stoffe ist offenbar nur die Fähigkeit, zu depolarisieren. Die Depolarisation der Schmerznervenendigungen durch Dehydrasenhemmung ist eine außerordentlich wichtige — aber nicht die einzige — Möglichkeit der chemischen Schmerzauslösung.

Der Parallelismus zwischen Schmerz- und Entzündungswirkung am Kaninchenauge und den dehydrasenhemmenden Wirkungsstärken, der für Bienengift und eine Reihe von Schlangengiften gilt, spricht dafür, daß auch hierbei die Dehydrasenhemmung eine kausale Rolle spielt. Da diese Tiergifte aber meist aus einer Anzahl von verschiedenen „Partialtoxinen" bestehen, ist gut denkbar, daß unter Umständen auch mehrere Giftkomponenten — dehydrasenhemmende und nichtdehydrasenhemmende — am Zustandekommen der Entzündungserscheinungen beteiligt sein können. Die Ergebnisse von Neumann u. Mitarb. lassen bei Bienengift auch an diese Möglichkeit denken.

Herz: Die von Fleckenstein gegebene Erklärung, durch Annahme verschieden guter Permeabilität für die mangelnde Übereinstimmung von schmerz- und entzündungserregender Wirksamkeit kann nicht als wahrscheinlich angesehen werden, da es sich bei den untersuchten Chinonen und Naphthochinonen um Substanzen handelt, die das gleiche Grundgerüst aufweisen und sich nur in ihrem Gehalt oder der Stellung von Oxy- oder Methylgruppen unterscheiden, was die Permeabilität nicht in wesentlichem Grad beeinflussen dürfte.

H. Th. Hofmann (Ludwigshafen): Prüfung der Hautwirkung chlorierter Naphthaline am Kaninchenohr.

Chlornaphthalinverbindungen werden wegen ihrer günstigen dielektrischen Eigenschaften und ihrer besonderen Hitzebeständigkeit und Wasserundurchlässigkeit in der Elektrotechnik als wachsartiges Isoliermaterial verwendet. Da sie acneartige Hautveränderungen („Perna-

Krankheit", „cable rash") und mitunter starke Leberschädigungen hervorrufen können, sind sie vom gewerbehygienischen Standpunkt aus nicht harmlos.

Nach Untersuchungen, die im Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg ausgeführt wurden, reagiert die Innenfläche des Kaninchenohrs auf Behandlung mit chlornaphthalinhaltigen Salben mit knötchenförmigen Efflorescenzen, die histologisch durch Talgstauung und maximale Erweiterung der Haarfollikel charakterisiert sind und ohne Entzündungserscheinungen einhergehen. Die Stärke der Reaktion nimmt mit steigendem Chlornaphthalingehalt der Salben zu, so daß chlornaphthalinhaltige technische Produkte hinsichtlich ihrer Hauttoxizität am Kaninchenohr vergleichend untersucht werden können.

Bei Behandlung mit höheren Chlornaphthalinkonzentrationen gehen die Tiere an schweren Leberschädigungen zugrunde, die also anscheinend auch durch percutane Resorption entstehen können.

G. Kroneberg (Mannheim-Waldhof)* und W. Sandritter (Frankfurt am Main): Zur Toxikologie der Bakterienendotoxine.

Für verschiedene Erreger von Darmkrankheiten wie Typhus, Cholera und Ruhr ist bekannt, daß man durch intravenöse Injektion der isolierten Endotoxine im Tierversuch eine Reihe von Darmschleimhautveränderungen erzeugen kann, die bestimmten Stadien der menschlichen Darmerkrankungen ähnlich sind. Von dieser sogenannten „Enterotropie" der Endotoxine hat man mehrfach angenommen, daß sie auf einer direkten zell- und gewebstoxischen Eigenwirkung der Endotoxine auf den Darm beruhe.

In Untersuchungen mit einem Endotoxin aus Flexnerschen Ruhrbakterien ließen sich jedoch keinerlei in-vitro-Wirkungen nachweisen, die das Gift als „Plasma"- oder „Nekrosegift" charakterisieren könnten. (Gewebekulturen, Trypanosomenstoffwechsel, isolierte pharmakologische Testobjekte, Gefäßpräparate.) Auch an dekapitierten Kaninchen ist das Endotoxin wirkungslos. Dagegen zeigten Versuche am *Ganztier*, daß das Endotoxin vor allem am *Kreislauf* eine erhebliche Wirkungsdynamik besitzt. Gleichzeitige kreislaufanalytische und histologische Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß während des größten Teils der Endotoxinvergiftung nur *funktionelle* Vergiftungsfolgen in Form eines *reflektorischen Kreislaufkollapses* und eines *Spannungskollapses* auftreten. Erst mit Beginn des *finalen paralytischen Kollapses*, dem Stadium des terminalen Kreislaufzusammenbruches, entwickeln sich auch die

* Die Untersuchungen wurden am Paul-Ehrlich-Institut, Frankfurt/M. (Direktor: Prof. Dr. med. R. Prigge) durchgeführt.

morphologischen Veränderungen der Dünndarmschleimhaut. Diese bestehen zunächst in einer auf einzelne Zottengruppen beschränkten Hyperämie. Nur an den hyperämischen Zotten ist das Zottenstroma aufgelockert und das Epithel abgeflacht. Nach kurzer Zeit ist die Hyperämie über alle Darmzotten generalisiert; die Plasmadiapedese führt zur Abhebung des Epithels, das degenerativ verändert und schließlich nekrotisch wird. Da bei Kollapszuständen anderer Genese (hämorrhagischer und traumatischer Kollaps) ganz ähnliche Darmveränderungen bekannt sind, ist anzunehmen, daß die sogenannte „Enterotropie" des Endotoxins mit der unspezifischen Kollapsgiftwirkung zusammenhängt.

Diskussion. H. Engelhard: Wie ist die hemmende Wirkung der Sulfonamide auf die enterotrope Wirkung der Bakterienendotoxine zu erklären?

Heubner erinnert an alte Arbeiten von Faust sowie von ihm selbst, die das gleiche Vergiftungsbild nach Bakteriengiften studierten, wobei sich die Schlußfolgerung ergab, daß eine Sonderbeteiligung von Capillaren angenommen werden muß, um die charakteristischen Lokalisationen der Hyperämien zu erklären.

Krause: Es wird darauf hingewiesen, daß hohe Veratrindosierungen, die beim Hund einen chronischen, schließlich tödlichen Kollaps hervorrufen, zu ähnlichen Veränderungen der Darmschleimhaut führen, wie sie Kroneberg beschrieben hat.

Sandritter: In Zusammenarbeit mit Heymann vom Paul-Ehrlich-Institut, Frankfurt am Main (Direktor: Professor Dr. Prigge), haben neuere Untersuchungen die unspezifische „Enterotropie" anderer Endotoxine und Toxine ergeben. Mit Typhus-, Coli-, Flexner-, Prodigiosus-, Breslau- und Shiga-Kruse-Endotoxin sowie Diphtherietoxin konnten bei den verschiedensten Tierarten (Hund, Ratte, Meerschweinchen, Maus und in geringerer Ausprägung beim Kaninchen) die von der Flexnerendotoxinvergiftung her bekannten morphologischen Darmveränderungen im Sinne einer hämorrhagischen, gering oberflächlich nekrotisierten Enteritis erzeugt werden.

Diese Befunde, besonders mit dem Toxin der nicht darmpathogenen Diphtheriebazillen bestärken uns in der Auffassung von der unspezifischen, kollapsbedingten Entstehung der Darmveränderungen. Ein allergischer Entstehungsmechanismus der Dünndarmveränderungen, etwa im Sinne eines Schwartzmann-Sanarelli-Phänomens, konnte durch Versuche an neugeborenen Hunden (steriler Darm) ausgeschlossen werden.

Schlußwort. Kroneberg: 1. Die morphologische Übereinstimmung der Darmveränderung im Kollaps bei den verschiedensten Kollaps- (bzw. Schock-) Ursachen läßt vermuten, daß stets der gleiche unspezifische Entstehungsmechanismus vorliegt, d. h. vom Organismus mit denselben oder weitaus ähnlichen Reaktionen geantwortet wird. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß in einem extremen Spannungskollaps, wo die periphere Zirkulation im Gebiet des Darms stark eingeschränkt, teilweise sogar ganz gedrosselt ist, bereits hypoxämische Schäden des Gewebsstoffwechsels eintreten, welche die ersten, zunächst morphologisch noch latenten Gefäßwandschäden setzen, die im finalen Stadium der Gefäßlähmung manifest werden. Für eine gefäßwandschädigende Einwirkung des Endotoxins haben wir keine Anhaltspunkte gefunden.

2. Die Kreislaufwirkungen des *Veratrins* haben Ähnlichkeit mit dem vom Endotoxin hervorgerufenen reflektorischen Kollaps. Das Endotoxin gehört, wie

eigene Versuche zeigten, wahrscheinlich zur Gruppe der zahlreichen Substanzen, die einen Bezold-Jarisch-*Reflex* auslösen. Die Darmveränderungen bei der Veratrinvergiftung sind wohl ebenso unspezifische Kollapsfolgen wie die Veränderungen im Endotoxin-Kollaps, was im einzelnen noch geprüft werden müßte.

3. Der Mechanismus der Sulfonamidwirkung auf die Endotoxinvergiftung ist u. W. unbekannt.

H. F. Zipf (Bonn): Elektrophysiologische Untersuchungen zum Problem der Ausschaltung innerer sensibler Receptoren durch Lokalanästhetica.

Durch intravenöse Gaben von Lokalanästheticis lassen sich innere sensible Receptoren, z. B. des Herzens und der Lunge, ganz oder teilweise ausschalten. Diese Tatsache erlaubt uns, zu dem Begriffe der äußeren Lokalanästhesie denjenigen der *endoanästhetischen Wirkung* hinzuzufügen. Nach der Methode von Schaefer wurde die Aktionsstromtätigkeit in afferenten Herz- und Lungennerven von Katzen untersucht und die Einwirkung von einmaligen intravenösen Injektionen und von Dauerinfusionen verschiedener Lokalanästhetica geprüft. Einen partiellen, aber deutlichen Einfluß übte die intravenöse *Dauerinfusion* aus, hier an der Impulssendung durch einen mitteldicken rechten Herzvagusast gezeigt. Die vorher dichten Impulsgruppen sind schon 3 min nach einer Infusion von 3,1 mg/kg/min *Oxy-Procain* erniedrigt und gelichtet. Der endoanästhetische Effekt ist nach 9 min noch deutlicher. Er ist 12 min nach Beendigung der Dauerinfusion fast völlig wieder verschwunden. Die gleiche partielle Wirkung ließ sich auch an der Tätigkeit der Lungendehnungsreceptoren beobachten. Die der künstlichen Beatmung entsprechenden Impulsserien wurden durch *einmalig* 1 mg/kg *Bronchocain* intravenös etwas erniedrigt. Die Beeinflussung dauerte nur kurz an. 1 min später zeigten die Dehnungsreceptoren wieder fast völlig normale Aktivität. Deutlicher wirkte die intravenöse *Dauerinfusion* von 3,3 mg/kg/min *Procain*. 3 und noch besser 9 min nach Beginn derselben sind die „Atemspindeln" flach geworden.

Viel *stärkere endoanästhetische Wirkungen* ergaben sich, als wir die Lokalanästhetica auf die *Veratrindauerentladung* oder auf *Dauerimpulse von geschädigten Herzen* einwirken ließen. In dem hier gezeigten Versuch wurde die vorher vor allem herzsynchrone Impulsperiodik durch 100 γ/kg *Veratrinsulfat* in eine kontinuierliche Impulsaussendung umgewandelt. Durch 0,5 mg/kg *Rhenocain* intravenös wurde die Dauerentladung beseitigt. Die alte Periodik zeigte sich wieder. Der Effekt verschwand von der 3. min an, die Veratrinwirkung brach wieder durch. Sie ließ sich durch die doppelte *Rhenocaindosis* (1 mg) völlig aufheben. — In dem Herzvagusast dieses weiteren Versuches liefen neben den proprioceptiven Dehnungsimpulsen *Dauerimpulse*, hervorgebracht durch die versuchsbedingte Schädigung des Herzens. Eine *Dauerinfusion* von 5,8 mg/kg/min 2% *Procain*

brachte diese Zwischenimpulse nach 3 min zum Teil, und nach 10 min fast ganz zum Verschwinden. 15 min nach Beendigung der Dauerinfusion ist das Ausgangsbild fast völlig wieder zum Vorschein gekommen. — An *Lungenvagusnerven* ließen sich gleiche Befunde erheben. Die atemsynchronen Impulsserien werden durch 100 γ/kg *Veratrin* in eine Dauerentladung verwandelt, äußerlich nicht zu unterscheiden von einer Veratrinwirkung auf Herznerven. Nach 5 mg/kg i. v. *Procain* erscheint in dieser Abbildung die frühere Periodik wieder, die Atemspindeln lassen eine Abflachung unter die Ausgangslage erkennen. Nach 1 min ist die Procainwirkung völlig verschwunden. Die wieder hervortretende Veratrindauerentladung wird anschließend durch *Oxy-Procain* (in gleicher Dosierung) noch stärker beeinflußt als durch Procain, ist aber gleichfalls nur von kurzer Dauer. — *Pantocain* (0,5 mg/kg i. v.) und *Parpanit* (5 mg/kg i. v.) waren ebenfalls gegenüber Veratrin wirksam.

Bei allen Veratrinversuchen an Lungen- und Herznerven sahen wir unter der Einwirkung von Lokalanästheticis die alte Periodik wiederkehren. Niemals aber verschwanden die proprioceptiv ablaufenden Dehnungsimpulse, diese wurden lediglich etwas unter die Ausgangslage erniedrigt. Diese leichtere Beeinflußbarkeit gilt auch für die Dauerimpulse des geschädigten Herzens. *Chemoreceptoren und Schmerzreceptoren sind leicht zu anästhesieren, die spezifisch gebauten Dehnungsreceptoren nur sehr schwer.*

Diskussion. Fleckenstein: Eine größere Anzahl einfacher Lokalanästhetica, lokalanästhetischer Antihistaminkörper und lokalanästhetischer Antiacetylcholin-Substanzen (Parpanit, Trasentin usw.) vermag bei i.-v.-Verabreichung an der Katze die sensiblen Receptoren des Bezold-Jarisch-Reflexes gegenüber dem erregbarkeitssteigernden Veratrin zu desensibilisieren (Eichholtz, Fleckenstein und Muschaweck, 1949). Die zur Verhinderung des reflektorischen Veratrin-Kollapses benötigten i.-v.-Dosen liegen nach unseren Ergebnissen für gute Schleimhautanästhetica bei 1—2 mg/kg (1950). Novocain wirkt unsicher; die größte „therapeutische Breite" besaß in unseren Versuchen Parpanit.

Zipf antwortet: Die hier gezeigten afferenten Herzvagusimpulse stammen hauptsächlich aus A-Receptoren (Dehnungs-) und somit vor allem aus den Vorhöfen. Die afferenten Lungenvagusimpulse entspringen Dehnungsreceptoren der Lunge. Ihre Umwandlung in eine Dauerentladung durch Veratrin gibt nicht den Zustand des Bezold-Jarisch-Effekts (BJE) wieder, der bekanntlich aus den Kammern (vor allem der linken) kommt. Deren Impulsaussendung unter Veratrin ist nicht identisch mit der von uns gezeigten. Die von Fleckenstein erwähnte Antiveratrinwirkung verschiedener Lokalanästhetica ist elektrophysiologisch damit eigentlich nicht als Ausschaltungseffekt an den BJE-Receptoren bewiesen, wenngleich dieser sehr anzunehmen ist. Die eigenen Untersuchungen geben ganz allgemein die Beeinflussung normal tätiger oder durch Stoffwechselprodukte oder toxisch durch Veratrin zur Dauerentladung erregter Herz- und Lungenreceptoren durch Lokalanästhetika wie der. Sie greifen über den Sonderfall der Aufhebung des BJE durch Lokalanästhetica hinaus und zeigen, daß an verschiedenartigen Organen eine Ausschaltung innerer sensibler Receptoren möglich ist, eine Wirkung der „Lokalanästhetica", für die der Ausdruck „*Endoanästhesie*" bzw. *endoanästhetischer Effekt* vorgeschlagen wird.

L. Schmidt und R. Engelhorn (Freiburg): Die Abhängigkeit der Coronardurchblutung vom arteriellen Blutdruck.

Bei der Untersuchung coronarerweiternder Substanzen wurde die Beobachtung gemacht, daß nachgewiesenermaßen coronarerweiternde Stoffe eine Verringerung der Coronardurchblutung bewirkten, wenn sie gleichzeitig zu einer Blutdrucksenkung führten. Von dieser Beobachtung ausgehend wurde versucht, Einblick in die Beziehungen zwischen arteriellem Blutdruck und Größe der Coronardurchblutung zu gewinnen.

In 10 Hundeversuchen wurden drei Faktoren erfaßt:

1. Der periphere arterielle Blutdruck in der Art. femoralis,

2. die Größe der Coronardurchblutung mit dem Eckenhoffschen Bubbleflowmeter,

3. der Blutdruck im ramus desc. der linken Coronararterie.

Sämtliche Versuche verliefen übereinstimmend. Eine Abhängigkeit von der Narkose konnte nicht festgestellt werden, ebenso verliefen die Versuche unabhängig von der Art der Atmung (Spontanatmung bzw. künstliche Beatmung mit der Starling-Pumpe) gleichartig.

Bei der Injektion dreier verschieden großer Suprarenindosen (50 γ, 25 γ und 12,5 γ) entspricht jedem Blutdruckanstieg im peripheren Kreislauf eine gleich hohe Drucksteigerung in der Coronararterie und eine deutliche Vergrößerung des Coronardurchflusses.

Nach Injektion dreier verschieden großer Dosen Acetylcholin (500 γ, 1 mg und 2 mg) zeigen Coronardruck und Femoralisdruck identisches Verhalten, wie jede Blutdrucksenkung mit einer Verringerung des Coronardurchflusses einhergeht.

Es wird der Schluß gezogen, daß neben anderen Faktoren (autonome Nervenversorgung, Sauerstoff-Sättigung des arteriellen Blutes) auch der arterielle Blutdruck für die Größe der Coronardurchblutung eine Rolle spielt.

Diskussion. Engelhorn ergänzt: a) Unsere Untersuchungen beschränkten sich auf die Beobachtung der Abhängigkeit der Coronardurchblutung vom arteriellen Blutdruck. Von einer Bestimmung der Blutgase oder des Einflusses nervöser Regulationen wurde abgesehen.

b) Unsere Befunde wurden auch bei Versuchen mit anderen Stoffen bestätigt: Gibt man bei normalem Blutdruck 25 mg Papaverin i. v., so kommt es zu einer Senkung des Blutdruckes in der Coronarie und in der Art. femoralis sowie zu einer Verlangsamung des „Blasenumlaufes". Werden dagegen 5 VE Vasopressin gegeben, so steigen Coronardruck, Femoralisdruck und „Blasenumlauf" an.

Wirth: Am coronardurchströmten Hundeherz in situ nach Eckenhoff, Hafkenschiel und Landmesser (1947) hat sich das Bubble-Flowmeter zur Prüfung coronarerweiternder Mittel bei uns geeignet gezeigt (47 gelungene Versuche).

Schmidt antwortet: Verwendbar waren im Verlaufe unserer Untersuchungen nach grober Schätzung 75—80%.

G. Zetler (Kiel): Besitzen die Hormone des Neurohypophysen-Zwischenhirnsystems eine Trägersubstanz?

Vasopressin, Adiuretin und Oxytocin finden sich nicht nur in der Neurohypophyse, sondern auch in den Nuclei supraoptici und Nuclei paraventriculares des vorderen Hypothalamus sowie im Tractus supraopticohypophyseus, der Faserverbindung dieser Ganglienzellanhäufungen mit der Neurohypophyse (Hild u. Zetler 1951, 1952). Wie Bargmann 1949 zeigen konnte, enthalten diese Gehirnpartien bei der histologischen Färbung nach Gomori intracellulär blaue granuläre Massen, die als Sekretionsprodukt der Ganglienzellen angesehen und deshalb Neurosekret genannt werden. In unseren vorangegangenen Arbeiten erhoben wir immer wieder den auffallenden Befund einer sehr engen quantitativen Parallelität zwischen der Konzentration an Neurosekret im histologischen Bild und der extrahierbaren Hormonmenge. Diese Parallelität geht so weit, daß Rückschlüsse vom histologischen Befund auf die lokale Hormonkonzentration und umgekehrt möglich sind. Es erhob sich deshalb die Frage, ob die Hormone mit dem Neurosekret identisch seien. — Wir legten (zusammen mit Hild) 10 frische Schweine-Hypophysenhinterlappen (HHL) 12 Std lang in ein Alkohol-Chloroformgemisch, hälfteten sie und verarbeiteten jeden Hinterlappen histologisch und pharmakologisch. Im Gegensatz zu 10 normalen Kontrollen enthielten die HHL nach der Einwirkung des Alkohol-Chloroformgemisches kein Neurosekret mehr. Nach Abdunsten des Fettlösungsmittels und Aufnahme des fettigen Rückstandes in Wasser entstand eine trübe Suspension, die mittels Agar-Agar verfestigt und danach histologisch untersucht wurde (Gefrierschnitte, Färbung nach Gomori): Der Agar-Agar blieb ungefärbt, die Partikel der Suspension färbten sich blau (Kontrollen aus Großhirn färbten sich nicht). Das Neurosekret war also quantitativ in das Alkohol-Chloroformgemisch übergegangen. Das Verhalten der Hormone wurde mittels Vasopressinbestimmung bei 10 völlig frischen HHL, 10 mit Alkohol-Chloroform extrahierten HHL und bei den zugehörigen 10 Abdampfrückständen verfolgt. Die frischen HHL enthielten 5,79 IE/mg Trockensubstanz, die Alkohol-Chloroform-extrahierten HHL 5,62 IE/mg, die Abdampfrückstände 0,0127 IE/mg (bezogen auf das Trockengewicht der zugehörigen vorextrahierten HHL). — Da durch die Vorbehandlung mit Alkohol-Chloroform das Neurosekret quantitativ extrahiert und zugleich von den Hormonen getrennt wurde, kann es nicht identisch mit den Hormonen sein. Das Neurosekret könnte die Funktion einer Vehikel- oder Trägersubstanz der Hormone des Neurohypophysenzwischenhirnsystems haben.

Diskussion. Vogt: Welche Untersuchungen sind gemacht, um das Neurosekret chemisch zu charakterisieren?

Zetler: Die Rückstände der abgedampften Alkohol-Chloroform-Extrakte wurden zur Extraktion von Vasopressin mit 0,25%iger Essigsäure-Lösung gekocht. Dabei hellte sich die ursprünglich trübe Suspension unter Bildung gröberer Flocken auf. Diese Flocken ließen sich abfiltrieren, in Äther lösen und aus dem Äther mittels Aceton fällen. Demnach könnte das Neurosekret Phosphatid-Charakter besitzen.

A. Fleckenstein (Heidelberg): Konstitution und Wirkung sympathomimetischer Amine. Neue Gesichtspunkte nach Versuchen an der normalen und denervierten Nickhaut der Katze.

Die Untersuchungen von Cannon u. Rosenblüth haben zu der Vorstellung geführt, daß nach Denervierung eines Organs die Empfindlichkeit für chemische Reize allgemein zunimmt. Es war daher sehr überraschend, daß nach unseren Ergebnissen[1] bestimmte Sympathomimetica (Benzedrin, Pervitin, Veritol), welche die normal innervierte Nickhaut der Katze zur Kontraktion bringen können, 3—4 Tage nach Denervierung der Nickhaut (Exstirpation des oberen Cervicalganglions) ihre Wirksamkeit weitgehend verlieren. Diese Substanzen können also nur so lange starke Effekte ausüben, als das postganglionäre sympathische Neuron intakt ist. Die Annahme liegt daher nahe, daß Benzedrin, Pervitin und Veritol an der normal innervierten Nickhaut auf indirektem Wege wirken, indem sie vielleicht durch Hemmung der Aminoxydase) Noradrenalin als chemischen Überträger zur Akkumulation bringen oder auf eine andere Weise zu einer Freisetzung von Noradrenalin führen. Wenn die postganglionäre Faser nach der Exstirpation des oberen Cervicalganglions degeneriert und die Noradrenalin-Bildung sistiert, müßten Benzedrin, Pervitin und Veritol notwendigerweise ihren Effekt verlieren. Auch Tyramin und β-Phenyläthylamin sind — wenigstens in höheren Dosen — an der normalen Nickhaut weit stärker als an der denervierten wirksam. Beide Substanzen haben hohe Affinitäten zur Aminoxydase und man kann auch hier einen derartigen indirekten Wirkungsmechanismus vermuten. Das gemeinsame chemische Merkmal dieser Substanzen (Gruppe I der Tabelle) sind 2 H-Atome am β-Kohlenstoffatom der Seitenkette. Der Ring ist ohne OH-Gruppe oder trägt 1 OH-Gruppe in p-Stellung.

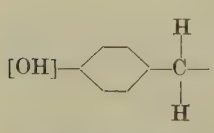
Eine wesentliche Veränderung der Wirkung tritt bei Einführung einer OH-Gruppe am β-Kohlenstoffatom der Seitenkette ein. Die geprüften Sympathomimetica dieses Typs (Gruppe II der Tabelle, mit Ephedrin als wichtigstem Vertreter) haben eine direkte Wirkung am sympathisch innervierten Erfolgsorgan und bringen auch die denervierte Nickhaut zur Kontraktion. Eine mäßige Abschwächung an der denervierten Seite ist jedoch in den meisten Fällen deutlich.

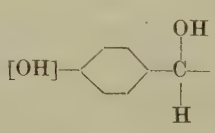
[1] Vergl. Fleckenstein, A., u. I. H. Burn, Brit. J. Pharmacol. (im Druck).

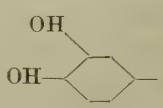
Als dritte Gruppe sympathomimetischer Amine sind die Catecholderivate mit 2 OH-Gruppen im Ring klar abgrenzbar. Alle diese Substanzen haben am denervierten Organ verstärkte Effekte. Der Wirkungscharakter ist bei diesen Stoffen durch die 2 OH-Gruppen im Ring bestimmt; die spezielle Konfiguration am β-Kohlenstoffatom der Seitenkette ist dann ohne besondere Wichtigkeit. Noradrenalin, Corbasil, Epinin und Dioxyephedrin können in Abhängigkeit von der Dosierung 10—40mal stärkere Kontraktionen an der denervierten Nickhaut verursachen. Die gewaltige Sensibilisierung für die genannten Catecholamine erreicht zur selben Zeit (3—4 Tage) ihren Höhepunkt, in welcher die Wirkung von Pervitin und verwandten Stoffen an der denervierten Nickhaut zusammenbricht. Dieser Zustand der vollen Denervierung bleibt während einer Beobachtungszeit von 50 Tagen unverändert.

Tabelle. *Der Einfluß der Denervierung auf die Wirkung sympathomimetischer Amine an der Nickhaut der Katze.*

I Sympathomimetica mit stark abgeschwächter Wirksamkeit an der denervierten Nickhaut	II Sympathomimetica mit wenig veränderter Wirksamkeit an der denervierten Nickhaut	III Sympathomimetica mit gesteigerter Wirksamkeit an der denervierten Nickhaut
Benzedrin Pervitin Veritol Tyramin β-Phenyläthylamin	Ephedrin p-Oxyephedrin β-Phenyl-β-Oxyäthylamin p-Oxyphenyl-β-Oxyäthylamin	Adrenalin Noradrenalin Dioxyphenyl-äthylamin Epinin Corbasil Dioxyephedrin Neosynephrin*
Gemeinsame Konstitution:	Gemeinsame Konstitution:	Gemeinsame Konstitution:







* Neosynephrin = Meta-Sympatol besitzt am Ring nur 1 OH-Gruppe, ähnelt aber in der Wirkung an der denervierten Nickhaut dem Adrenalin.

Sehr wichtig ist, daß sympathomimetische Amine an normalen Nickhäuten akut cocainisierter Katzen in vielen Einzelheiten so wirken, als ob diese Nickhäute chronisch denerviert seien: Stoffe der Gruppe I werden durch Cocain stärkstens abgeschwächt, Ephedrin und die verwandten Substanzen der Gruppe II wenig beeinflußt, während die Catecholamine (Gruppe III) durch Cocain ganz ähnlich wie nach Denervierung verstärkt

werden. Diese Übereinstimmung zwischen Denervierung und Cocainisierung wirft die Frage auf, ob etwa Cocain seine Effekte auf sympathomimetische Amine durch akute pharmakologische Ausschaltung sympathischer Nervenendigungen ausübt, d. h. eine akute „pharmakologische Denervierung" erzeugt. Die bisher übliche Erklärung, wonach Cocain durch Hemmung der Aminoxydase die Zerstörung sympathomimetischer Amine verzögern und dadurch deren Effekt erhöhen soll, ist unwahrscheinlich; denn auch Corbasil und Dioxyephedrin, die keine Substrate der Aminoxydase sind, werden durch Cocainisierung maximal verstärkt.

H. Kewitz und H. Reinert (Berlin-Dahlem): Wirkung sympathicomimetischer Substanzen am oberen Halsganglion.

Auf verschiedene Weise erzeugte Erregungen werden im isoliert durchströmten oberen Halsganglion durch Adrenalin und Noradrenalin in genau entgegengesetzter Richtung verändert. Die durch Acetylcholin hervorgerufene Erregung wird verstärkt, die durch präganglionäre Sympathicusreizung ausgelöste abgeschwächt.

Die Adrenalinderivate Sympatol, Effortil, Ephedrin und Tyramin haben nur die abschwächende Wirkung auf die präganglionäre Reizung, nicht aber die steigernde auf die durch Acetylcholin induzierte Erregung. Es werden allerdings 10—20fach höhere Dosen benötigt.

Die zentral erregenden Sympathicomimetica Pervitin, Benzedrin und Hordenin wirken nicotinähnlich. Sie erzeugen selbst eine Erregung, der eine Phase geringerer Empfindlichkeit der Ganglienzellen für Reinjektionen und für Acetylcholin folgt. Hier besteht der Unterschied zwischen den beiden Erregungsformen darin, daß die elektrisch ausgelösten Erregungen in dieser zweiten Phase ungestört übertragen werden.

Damit sind wesentliche Differenzen zwischen der durch Acetylcholin hervorgerufenen Erregung und der durch präganglionäre Reizung erzeugten nachgewiesen.

Es wird festgestellt, daß zwischen der chemischen Konstitution und der pharmakologischen Wirkung der untersuchten Sympathicomimetica auf cholinergische Ganglien kein Zusammenhang besteht.

H. F. Häusler (Graz): Zur Frage der zentralen Übertragung afferenter Impulse.

An einem einfachen, kontralateral-elektrisch gereizten Frosch- bzw. Kröten-Rückenmarksperfusionspräparat[1, 2] können nicht nur Pharmaka mit bekanntem zentralen Angriffspunkt in bisher nicht nachweisbaren Konzentrationen geprüft werden, sondern auch als Überträgersubstanzen angesprochene Stoffe; auf Histamin kommt es zu Spontanzuckungen

und nachherigen Tonuserhöhungen, während welcher bei hohen Histamindosen die Reflextätigkeit erlischt. Mit diesem Präparat ließ sich auch ein Rückenmarksperfusat über die hinteren Wurzeln gereizter Tiere gewinnen, welches — am Meerschweinchenileum gegenüber Acetylcholin und Kalium-Ionen abgegrenzt und an Dibendrin ausgetestet — beim Durchfließenlassen durch ein „Test"-Präparat zu dem geschilderten Histamin-Wirkungsbild führt; doch ist damit bei der Reflexübertragung im Rückenmark vorerst eine vielleicht bedingungsmäßige, keinesfalls noch eine ursächliche Rolle des Histamins, sei es für die Reizübertragung, sei es für Impuls-Entstehung oder Leitung, festgestellt, dieses könnte (wie bei jeder Gewebsalteration) auch bei der kontralateral-elektrischen Reizung im „Nervengewebe" des Rückenmarks frei werden. Darüber müssen weitere Versuche entscheiden, dies um so mehr, als von den Mitarbeitern Lembeck, Lazarini und Kopera[3] Extrakte aus verschiedenen Partien des ZNS nach der von uns modifizierten Hellauer- und Umrath-Methode[4] gewonnen und auf den Gehalt an einem Stoff untersucht wurden, der einerseits der von Umrath[5] als „Erregungssubstanz sensibler Nerven" bezeichneten und weitgehend der Substanz P ähnlich ist, andererseits durch Blutdruck- und Darmtestversuche gegen Ionen, Acetylcholin, Histamin, Adenosinverbindungen abgegrenzt werden konnte. Mit dem Kaninchenohrtest[4] parallel geht sein Vorkommen in den hinteren Wurzeln, während die vorderen Wurzeln nur geringe Mengen enthalten; doch findet sich dieser möglicherweise als „nichtcholinerge Überträgersubstanz" bedeutsame Wirkstoff auch in manchen Partien des ZNS (viel in den Hintersträngen, Vierhügeln, Corpus restiforme; wenig in den Vordersträngen, in der gesamten Hirnrinde, im Kleinhirn), welche topische Verteilung die Möglichkeit offen läßt, daß es sich dabei um eine Erregungssubstanz nicht nur der afferenten Bahnen handelt.

Literatur.

[1] Häusler, H. F., u. H. Sterz: I. Mitteilung: Histamin: Jl. of the Mt. Sinai Hosp. **19**, 121 (1952); E. P. Pick-Anniversary Volume. — [2] Sterz, H.: II. Mitteilung: Exzitantia, Acetylcholin, Adrenalin: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 256 (1953) — [3] Lembeck, F.,: III. Mitteilung (im Erscheinen). — [4] Kopera, H., u. W. Lazarini: IV. Mitteilung (im Erscheinen). — [5] Hellauer, H. F., u. K. Umrath: Arch. ges. Physiol. **249**, 619 (1948); **250**, 737 (1948). — [6] Umrath, K.: Z. vergl. Physiol. **33**, 457 (1951); **34**,93 (1952).

R. Knebel (Münster), unter der Mitarbeit von F. Bender: Über die pharmakologische Beeinflussung des Liquordruckes durch Verbindungen der Adrenalin- und Theophyllinreihe.

Bei gleichzeitiger Aufnahme occipitaler und lumbaler Liquordruckpulse am Menschen mit hochempfindlichen optischen Frankschen Federmanometern treten die Lumbalpulse gegenüber den Occipitalpulsen verspätet auf. Dieses ermöglicht die Bestimmung der Wellengeschwindigkeit

der durch arterielle Hirnpulsationen ausgelösten und über das Liquorsystem caudalwärts ablaufenden Druckpulse. Die Größe der Wellengeschwindigkeit dient als Maß für die Wanddehnbarkeit des Duralsackes. Außerdem wurde der wirksame elastische Widerstand des Liquorsystems direkt gemessen. Die bei pharmakologischer Beeinflussung des Liquordruckes auftretenden Druckschwankungen werden durch die Elastizitätsverhältnisse des als Windkessel wirkenden Duralsackes wesentlich beeinflußt.

Aus der Reihe der blutdrucksteigernden adrenalinähnlichen Körper kommt es außer nach 10—50 γ Adrenalin i. v. auch nach 10—50 γ l-Arterenol i. v. zu einer mehrere Minuten anhaltenden Liquordrucksteigerung; bei gleicher Dosis hält die Arterenolwirkung länger an. Nach 0,06 Sympatol i. v. beträgt die Liquordrucksteigerung 10—15 min und nach 0,01 Effortil i.v. entsprechend der längeren Kreislaufwirkung etwa 45 min. Im Gegensatz hierzu senken die Substanzen adrenalinähnlicher Körper mit nicht oxydiertem Benzolkern wie Ephedrin und Pervitin den Liquordruck; die Wirkungsdauer beträgt bei 0,05 Ephedrin i. v. etwa 20 min und bei 0,015 Pervitin i. v. etwa 30 min. Peripherin, ein Kombinationspräparat aus Ephedrin und Theophyllin, senkt den Liquordruck stärker und wesentlich länger anhaltend als Ephedrin allein. Dieses ist auf die zusätzliche liquordrucksenkende Wirkung des Theophyllins zurückzuführen, welches stets zu einer länger anhaltenden Liquordrucksenkung führt. Oxyäthyltheophyllin (Cordalin), ein wasserlösliches Theophyllinderivat, hat eine etwas geringer liquordrucksenkende Wirkung als Deriphyllin bei gleichem Theophyllingehalt. Theophyllin beeinflußt den als Windkessel wirkenden Duralsack durch Abnahme des wirksamen elastischen Widerstandes des Liquorsystems. Auch die Lösungsvermittler des Theophyllins Diäthanolamin, Monoäthanolamin und Äthylendiamin weisen eine Liquordrucksenkung verschiedenen Wirkungsgrades auf.

H. Keller (Bonn): Die Wirkung von DDT auf esterspaltende Fermente.

In Fortsetzung früherer Untersuchungen über die Hemmwirkung von DDT auf Fermente (Carbonanhydrase) wurden tierische und pflanzliche Esterasen mit DDT in Kontakt gebracht. Dabei zeigt sich, daß vor allem die Leberesterase durch DDT innerhalb bestimmter Konzentrationsbereiche eine erhebliche Aktivierung erfährt. Die Steigerung der Aktivität wurde durch photometrische Messung verfolgt. Möglichkeiten zur Weiterentwicklung dieser Beobachtung werden kurz erörtert.

G. Grupp (Freiburg): Die Redukton-Stabilisierung von Adrenalin und Nor-Adrenalin.

Die durch Abderhalden bekannte Tatsache, daß Ascorbinsäure Adrenalin in Phosphatpufferlösung stabilisiert, wurde zur Feststellung des Wirkungsmechanismus untersucht. Dazu wurde in Betracht gezogen,

ob eine allgemein reduzierende Eigenschaft ausreicht, oder ob eine besondere Molekülkonfiguration des Reduktons notwendig ist.

Als allgemein reduzierender Stoff wurde Methylenblau untersucht, als Reduzens mit Säurenatur Cystein und als Endiol-Reduktone Ascorbinsäure, Reduktinsäure, Methyl-Reduktinsäure und l-Arabo-Ascorbinsäure. Zur Feststellung einer möglichen Säurewirkung wurde als Vertreter organischer Säuren d-Galakturonsäure und als anorganische Säure Salzsäure verwendet.

Die sauren Adrenalinlösungen sind auch ohne Stabilisatorzusatz über ein Jahr haltbar. Daher wurden alle Lösungen in gleicher Weise mit Natronlauge versetzt. Bei der hier verwendeten Menge (2 cm^3 n/10 NaOH) werden Adrenalinlösungen innerhalb von 7 Tagen vollständig zerstört. Bei Zusatz der oben erwähnten Stoffe geben die Endiol-Reduktone gleichmäßig die weitaus besten Ergebnisse. Cystein und d-Galakturonsäure stabilisieren nur schwach, Methylenblau und Salzsäure gar nicht.

Dies spricht dafür, daß die Adrenalinstabilisierung durch Ascorbinsäure von einem gegenseitigen Schutz abhängig ist, da auch das Adrenalin als Endiol (allerdings im Benzolring fixiert), mit reduzierenden Eigenschaften aufgefaßt werden kann. Diese Schutzwirkung kommt dadurch zustande, daß die Ascorbinsäure als stärkeres Reduktion das zerstörende Agens (Natronlauge) zuerst aufnimmt und Adrenalin erst zerstört wird, wenn die Ascorbinsäure ganz ihre reduzierenden Eigenschaften verloren hat. Dies konnte durch langsamen fraktionierten Abbau mit jeweils 0,5 cm^3 n/10 NaOH in Abständen von 2 Tagen wahrscheinlich gemacht werden.

Unter gleichen Versuchsbedingungen ist Nor-Adrenalin etwa doppelt so stabil wie Adrenalin.

Adrenalin-Nor-Adrenalin-Gemische sind nicht stabiler als Nor-Adrenalin allein.

J. Alberty (Göttingen): Über Wirksamkeitsunterschiede von Antihistaminsubstanzen an der glatten Muskulatur von Darm und Lunge.

Die histaminantagonistischen Wirkungsstärken der „Antihistaminica" („AH") Tripelennamin („Pyribenzamin" Ciba) (I), p-Brom-Tripelennamin („Hibernon" Diwag) (II) und Antazolin („Antistin" Ciba) (III) sowie von Atropin wurden am isolierten Meerschweinchendarm und an der isolierten Meerschweinchenlunge bestimmt. Die isolierte Meerschweinchenlunge wurde mittels rhythmischen Unterdrucks beatmet und mit Tyrodelösung durch die Arteria pulmonalis durchströmt. Histamin und die antagonistisch wirkenden Substanzen wurden in der Durchströmungsflüssigkeit in bestimmten Konzentrationen gelöst. Die durch

In- und Exspiration verursachten Luftbewegungen in der Trachea wurden auf Russkymographion registriert. Für die Untersuchung am isolierten Meerschweinchendarm wurde entsprechend der von SCHILD angegebenen, etwas modifizierten Technik verfahren. Die Wirkungsstärke der jeweiligen Antagonistenkonzentration wurde bei beiden Methoden ausgedrückt durch den prozentualen Anteil der gegebenen Histaminkonzentration, welcher infolge der Anwesenheit des Antagonisten nicht zur Wirkung kam.

Zur Erzielung ebenso starker histaminantagonistischer Wirkung wie am isolierten Darm müssen an der isolierten Lunge die Konzentrationen von I auf das 80fache, von II auf das 200—800fache und von III auf das 10—30fache gesteigert werden. Die relativen Wirkungsstärken von I : II : III verhalten sich am isolierten Darm wie 1 : 3 : 0,05, an der isolierten Lunge unterscheiden sich dagegen die gleichwirksamen Konzentrationen aller drei Substanzen nicht wesentlich.

Um Auskunft darüber zu erhalten, ob die unterschiedlichen Wirkungsstärken an beiden Organen charakteristische pharmakologische Eigenschaften der AH I, II und III waren oder auf methodisch bedingte Verschiedenheiten der Wirkungsbedingungen zurückgeführt werden mußten, wurde die histamin- und die acetylcholinantagonistische Wirkungsstärke von Atropin in der gleichen Weise bestimmt. Atropin wirkt am isolierten Darm etwa 1000mal, an der isolierten Lunge etwa 100mal schwächer histaminantagonistisch als I, und die gleich stark wirksamen Konzentrationen von Atropin unterscheiden sich an beiden Organen nur geringfügig. Ebenso sind auch die acetylcholinantagonistisch wirksamen Konzentrationen von Atropin an beiden Organen quantitativ praktisch gleich.

Ein Vergleich der an der isolierten Lunge wirksamen Konzentrationen mit Angaben anderer Autoren über die wirksamen Dosen von I und III im Histaminasthmaversuch (Histaminaerosol) und im anaphylaktischen Schock (Antigen intrakardial) beim Meerschweinchen ergibt größenordnungsmäßige Übereinstimmung. Demnach besteht noch kein zwingender Grund zu der von anderer Seite geäußerten Annahme, daß die Histaminhypothese der Anaphylaxie für das Meerschweinchen grundsätzlich unrichtig ist.

Das morphologisch gleiche, eigentliche Substrat des AH — Histamin-Antagonismus, die glatte Muskelzelle, zeigt demnach erhebliche, offenbar organspezifische Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber den AH, dagegen keine wesentlichen Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber Atropin. Bei quantitativen Vergleichen der histaminantagonistischen und antianaphylaktischen (antiallergischen) Wirkungen der AH müssen die Beziehungen zwischen Erfolgsorgan und AH stärkere Beachtung finden. Hinsichtlich ihrer Spezifität können die AH zu den Systemgiften des autonomen Nervensystems nicht in Parallele gesetzt werden.

H. Giertz und R. Schunk (Düsseldorf): Über extrakardiale Verteilung der Herzglykoside.

In Meerschweinchenversuchen haben wir die Frage der Glykosidbindung an Leber und Niere erneut aufgegriffen. Wir bedienten uns der Methode der stufenweisen Organausschaltung. Durch Unterbindung der zuführenden Arterien wurde in einer 1. Tiergruppe das gesamte Leber-Darmgebiet ausgeschaltet, in einer 2. Tiergruppe wurde zusätzlich die Nierenzirkulation unterbrochen. Die letalen Dosen der untersuchten Glykoside an diesen Tiergruppen wurden mit den am intakten Tier erhaltenen tödlichen Dosen verglichen. Wir untersuchten Digitoxin, k-Strophanthin und Scillaren A bei je 3 Infusionsgeschwindigkeiten im Verhältnis 4:2:1. Entsprechend der Kreislaufverkleinerung durch die durchgeführten Unterbindungen wurde für die operierten Tiere eine halb so große Infusionsgeschwindigkeit wie für die entsprechende Gruppe intakter Tiere gewählt.

Unsere Untersuchungen ergaben, daß beim Digitoxin und beim k-Strophanthin die tödlichen Dosen am intakten Tier mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit zunahmen, und zwar beim Digitoxin stärker als beim k-Strophanthin. Diese Zunahme ist beim Scillaren A nicht zu beobachten. Nach Ausschaltung von Leber und Darm sind die letalen Dosen erheblich niedriger — die stärkste Abnahme ist beim Digitoxin festzustellen — und nehmen mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit nicht zu, sondern, wohl als Übertitrationseffekt, ab. Die für Digitoxin und k-Strophanthin gefundene Zunahme des Glykosidverbrauchs am intakten Tier mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit ist Ausdruck einer Elimination im Leber-Darm-Gebiet.

Wurden die Nieren zusätzlich ausgeschaltet, so erfolgte eine weitere Abnahme der tödlichen Dosen, die diesmal beim k-Strophanthin am größten, beim Digitoxin am geringsten war. Die Nierenbindung der untersuchten Glykoside verhält sich also umgekehrt wie ihre Affinität zum Albumin. Während beim Digitoxin und k-Strophanthin das Verhältnis der letalen Dosen am intakten zu denen am „leberlosen" Tier mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit als Folge des zunehmenden Glykosidverbrauchs im Leber-Darm-Gebiet zunimmt, bleibt die Glykosidbindung in den Nieren und damit das Verhältnis der letalen Dosen am „leberlosen" zu denen am zusätzlich „nierenlosen" Tier bei jedem Glykosid unabhängig von der Infusionsgeschwindigkeit konstant.

Bei der Prüfung der Frage, welche Rolle der Alkoholgehalt einer Infusionslösung spielt, stellten wir fest, daß sowohl beim Digitoxin wie auch beim k-Strophanthin ein erhöhter Alkoholgehalt die letale Dosis am intakten Tier herabsetzt, während nach Unterbrechung des Mesenterialkreislaufes die letale Dosis bei erhöhtem Alkoholgehalt der Infusionslösung eher etwas zunimmt. Der Alkoholgehalt der Infusionslösung wirkt

also auf die Elimination von Digitoxin und k-Strophanthin im Leber-Darm-Gebiet ein. Die letale Dosis des dort nicht eliminierten Scillaren A am intakten Tier wird durch erhöhten Alkoholgehalt der Infusionslösung nicht beeinflußt.

Diskussion. Lendle: Die Beteiligung der Leber an den Eliminationsvorgängen von Digitalisstoffen würde die Wirkungsverluste des Strophanthins bei oraler Zufuhr erklären. Das Digitoxin verliert entsprechend den beschriebenen Eliminationsvorgängen am Meerschweinchen bei dieser Tierart per os viel an Wirksamkeit.

F. Neuwald (Hamburg) und G. Zöllner (Nauheim): Über einen blutdruckwirksamen Inhaltsstoff der Blätter von Digitalis purpurea und Digitalis lanata.

Bei den Untersuchungen zur Aufklärung der parenteral „toxischen Fraktion" in Fingerhutblättern[1, 2, 3] ergab sich, daß wäßrige Digitalisauszüge nach erschöpfender Extraktion mit Chloroform zur Entfernung der bekannten herzwirksamen Glykoside den arteriellen Blutdruck der Katze beeinflussen.

Zum Nachweis der Blutdruckwirkung wurden 1%ige wäßrige Aufgüsse aus den Blättern von Digitalis purpurea L. und Digitalis lanata Ehrh. hergestellt, mit Bleiacetat gefällt und das überschüssige Blei mit sekundärem Natriumphosphat entfernt. Die gereinigten Digitalislösungen wurden erschöpfend mit Chloroform extrahiert und die wäßrigen Restlösungen unter vermindertem Druck zur Sirupkonsistenz eingeengt. Diese Rückstände wurden in isotonischer NaCl-Lösung aufgenommen, so daß 1 cm^3 0,5 g Folia Digitalis entsprach. Nach intravenöser Injektion bei mit Äthylurethan narkotisierten Katzen von jeweils 1 cm^3 der Lösungen der „toxischen Fraktion" je Tier (Durchschnittsgewicht: 3 kg) sinkt der arterielle Blutdruck bis auf etwa 60% seines Ausgangswertes ab.

Die Blutdrucksenkung wird relativ schnell wieder ausgeglichen und erreicht nach 3 min den Ausgangswert. Die depressive Wirkung auf den Blutdruck wird durch 5 mg Syntropan vorübergehend für etwa 2—3 Injektionen gehemmt. Atropin in Dosen von 0,5—1,0 mg hebt dagegen die Wirkung der „toxischen Fraktion" irreversibel auf. Die Durchschneidung beider Nervi vagi ist nicht imstande den Einfluß der Digitalislösung auf den Blutdruck zu vermindern oder gar zu unterbinden. Bei der chemischen Aufarbeitung der „toxischen Fraktion", über die an anderer Stelle berichtet wird, gelang es in Mengen von etwa 0,1—0,2%, auf Ausgangsdroge bezogen, Cholin als den blutdruckwirksamen Inhaltsstoff sowohl in Purpurea- wie auch in Lanatablättern zu isolieren und zu identifizieren. Cholin wurde bisher unter den zahlreichen Inhaltsstoffen von Digitalis purpurea und Digitalis lanata in der Literatur nicht erwähnt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und P. Beiersdorf u. Co. A.-G., Hamburg, sind wir für die Unterstützung dieser Untersuchungen zu besonderem Dank verpflichtet.

Literatur.

[1] Neuwald, F.: Arch. Pharmaz. **283**, 93 (1950). — [2] Zöllner, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 152 (1950). — [3] Neuwald, F., u. A. Diekmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 385 (1950).

Diskussion. Zöllner: Die Befunde von M. Kochmann (Arch. internat. Pharmacodynamie **16**, 221 [1906]; **19**, 119 [1909]) werden durch die Anwesenheit von Cholin in Digitalisextrakten gut verständlich. Nach bisherigen orientierenden Versuchen scheint die Toxizität von Reinglykosiden durch Cholinbeimengungen in Konzentrationen, wie sie in wäßrigen Drogenextrakten vorkommen, nicht gesteigert zu werden. Es ist als nächstes zu prüfen, ob eventuell geringe Acetylcholinzusätze zur Infusionsflüssigkeit die Wirksamkeit der in den Drogen enthaltenen Glykoside erhöht, da zu erwarten ist, daß dieser Stoff — im Sinne der Befunde von Goldschmidt u. Mitarb.: Z. Naturforschg **7***b*, 365 (1952) — bei der bisher angewendeten Aufarbeitungsmethode verseift wird.

Neuwald: Die stark hygroskopischen Eigenschaften von Digitalis-Trockenextrakten sind auf die Anwesenheit von Cholin zurückzuführen, wie es bereits Büchi für Belladonnaextrakte nachgewiesen hat.

M. Reiter (München): Untersuchung über die Wirkung von Strophanthin auf die Kontraktionskraft und den Sauerstoffverbrauch des Herzstreifens der Ratte bei isometrischen Bedingungen.

Der Sauerstoffverbrauch von Herzmuskelstreifen der Ratte wurde bei gleichzeitiger Registrierung der Kontraktionsstärke gemessen. Es wurde jeweils ein Muskelstreifen in einem modifizierten Atmungsgefäß an einem isometrischen Hebel aufgehängt und über zwei Elektroden 65mal in der Minute gereizt. Die Ausschläge des Hebels wurden außerhalb des Gefäßes mit Hilfe eines Lichtstrahls, der an dem Spiegel des Hebels reflektiert wurde, registriert. Die Messung des Sauerstoffverbrauches erfolgte manometrisch. Das Gefäß wurde in einem Wasserbad bei 37,5° C mit einer Frequenz von 120 pro Minute geschüttelt und nur zur Registrierung der Kontraktionsstärke alle 10—15 min angehalten.

Die Kontraktionsstärke des Muskelstreifens nahm in der 1. Std um etwa 50% ab. Die weitere Verminderung der Kontraktionskraft in der 2. und 3. Std verlief langsamer. Gleichzeitig mit der Kontraktionsstärke, aber in prozentual viel geringerem Ausmaß, nahm auch der O_2-Verbrauch ab. Zugabe von Strophanthin ($3{,}3 \times 10^{-5}$ molar) nach 50%iger Abnahme der Kontraktionsstärke nach der 1. Std bewirkte eine für längere Zeit anhaltende Erholung der Kontraktionsstärke. Gleichzeitig wurde das weitere Absinken des Sauerstoffverbrauches verhindert.

Die Abnahme der Kontraktionskraft und des Stoffwechsels der Herzmuskelstreifen wird auf eine durch die Suspensionslösung erfolgende

Schädigung des Gewebes zurückgeführt. Vermutlich betrifft diese Schädigung die Zellmembranen in ihrer Funktion, das Ionenmilieu der Zellen zu regulieren. Es wird angenommen, daß Strophanthin seine fördernde Wirkung auf Kontraktionsstärke und Stoffwechsel durch eine Veränderung der Ionendurchlässigkeit der Zellmembranen bewerkstelligt.

Diskussion. TAUBMANN fragt nach der relativen Verringerung des O_2-Verbrauchs unter Strophanthin.

RUMMEL fragt an, ob man in der Tatsache, daß unter Strophanthin mechanographisch die Wiederherstellung der ursprünglichen Kraftentfaltung gemessen wird, obgleich dabei der O_2-Verbrauch unter dem entsprechenden Ausgangswert bleibt, eine Verbesserung der Utilisation sehen dürfe, also das Analogon in vitro zu dem REINschen Befund am Hund bei Strophanthingabe im O_2-Mangel. — Ist die Kaliumkonzentration des Milieus im Hinblick auf die Erfahrungen von AEBI und FISCHER optimal?

WOLLENBERGER: Ist festgestellt worden, ob das Strophanthin einen spezifischen Effekt auf den Arbeitsstoffwechsel hat, d. h. des totalen minus des Ruhestoffwechsels?

LENDLE: Die vorgetragenen Befunde sprechen nicht für eine Verbesserung des „Wirkungsgrades" unter Digitalis, wie er am intakten Warmblüterherzen gefunden wurde. Man wird darin auch keinen Beweis für den primären Angriff im Stoffwechsel über eine Vagussensibilisierung sehen dürfen.

HILDEBRANDT: Die kontinuierliche Abnahme des O_2-Verbrauches beruht, wie aus Schweizer Untersuchungen hervorgeht, auf dem sich steigernden Ausfall der nicht mehr aktionsfähigen Muskelfasern.

BROCK: Läßt sich mit der angegebenen Methode eine Differenzierung in „Ruhe"- und „Erregungs"- (Arbeits-) Stoffwechsel vornehmen? Es wäre interessant, den Einfluß von Pharmaka, insbesondere von Strophanthin, auf die verschiedenen Stoffwechselarten bzw. -qualitäten zu studieren.

Schlußwort. REITER: PEARSON, HASTINGS und BUNTING haben 1949 gezeigt, daß der *Atmungs-(QO_2-)Wert von Herzmuskelschnitten* von 0,8—1,0 mm Dicke wesentlich größer ist als von Schnitten, die nur 0,2—0,3 mm dick sind. Da der rechte Ventrikel von 200 g schweren Ratten eine Wandstärke von etwa 0,8 mm hat, besitzen die daraus angefertigten Streifen also eine für die Atmungsmessung erforderliche Dicke. Eine *optimale Sauerstoff*versorgung des Gewebes ist wie bei den üblichen Stoffwechselmessungen an Gewebsschnitten durch eine genügend hohe Schüttelfrequenz gesichert. Die Anfangs*spannung* der Muskelstreifen betrug 100—150 mg.

Da in dieser Untersuchung das Verhalten des O_2-Verbrauches bei der therapeutisch erwünschten inotropen Muskelwirkung zur Frage stand, wurde als *Strophanthinkonzentration* diejenige gewählt, die die stärkste inotrope Wirkung verursacht, und diese ist für den Herzstreifen der Ratte 3,3 · 10^{-5} molar (MASUOKA und SAUNDERS). Das gleiche gilt auch für die Zusammensetzung der Suspensionslösung. Sie entsprach dem Medium, das MASUOKA u. SAUNDERS (Proc. soc. exper. Biol. a. Med., 1950) in einer systematischen Untersuchung als die hinsichtlich der Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskelgewebes der Ratte optimale Elektrolytlösung gefunden hatten. Die Erfahrungen, die AEBI bezüglich der vorteilhaften Zusammensetzung der Suspensionslösung für Leberschnitte gemacht hatte, lassen sich, wie von FISCHER berichtet wurde (FISCHER, HUBER u. LANGEMANN, Helv. Physiol. Acta, 1951), nicht ohne weiteres auf das Herzmuskelgewebe übertragen.

Will man den „*Ruhe-Stoffwechsel*“ des Herzmuskels der Ratte feststellen, so muß man den O_2-Verbrauch bei einer Schlagfolge von 350—400 pro Minute bei minimaler äußerer Arbeitsleistung messen. Unter diesen Bedingungen ist das Rattenherz in „Ruhe“. Reizt man den in einer Elektrolytlösung befindlichen Herzstreifen der Ratte 400mal in der Minute, so nimmt die Kontraktionskraft außerordentlich schnell ab. Will man verwertbare Messungen anstellen, so darf man den Muskel in diesem Milieu nur etwa 60—100mal in der Minute reizen. Der Sauerstoffverbrauch ist dabei nicht größer, als wenn der Muskel überhaupt nicht gereizt wird. Ein Unterschied zwischen „Ruhe“- und „Erregungs“-Stoffwechsel läßt sich bei der hier erfolgenden geringen Spannungsarbeit des Herzmuskelstreifens also nicht feststellen. Offenbar entspricht der gegenüber den Skeletmuskeln wesentlich höhere „Ruhe“-Stoffwechsel des Herzmuskels auch seiner normalen „Ruhe“-Tätigkeit.

Über die Verminderung der *aktiven Muskelfasern* im Laufe des Versuches gibt die Verstärkung der Kontraktionskraft auf Strophanthinzusatz zu verschiedenen Zeiten nach Versuchsbeginn Auskunft. Während nach der ersten Stunde des Versuches Strophanthin eine Verbesserung der Kontraktionskraft bis zum Ausgangswert bewirkt, ist nach 2 Std die Wirkung auf die Kontraktionskraft wesentlich geringer. Interessanterweise kommt es dann zu einer deutlichen Vermehrung des O_2-Verbrauches. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Wollenberger, Lévy und anderen Autoren, die eine Vermehrung des O_2-Verbrauches von Herzmuskelschnitten fanden, wenn sie Strophanthin nach Eintreten „stationärer Atmungswerte“, also etwa 2 Std nach Versuchsbeginn, zugaben. Die gleichzeitige Messung der Kontraktionsstärke zeigt nun, daß in diesem Stadium entweder die Zahl der „aktiven Muskelfasern“ erheblich vermindert oder die kontraktile Substanz aller Muskelfasern stark geschädigt sein muß.

Zu der Frage, wie die vorgetragenen Ergebnisse mit der Auffassung zu vereinbaren sind, daß durch Strophanthin der O_2-Verbrauch des Herzmuskels durch direkte Stoffwechselwirkung vermindert wird, ist zu sagen, daß die dieser Auffassung zugrunde liegenden Untersuchungen von Gremels am Herz-Lungen-Präparat vorgenommen wurden, ohne daß das diastolische Volumen des Herzens während der Versuche konstant gehalten wurde. Nun war aber seit Starling und Visscher bekannt, daß der O_2-Verbrauch des Herzens zum überwiegenden Teil von der diastolischen Faserlänge bestimmt wird. Da gerade das diastolische Volumen in der Insuffizienz verändert zu sein pflegt, ist es ohne dessen Kontrolle bzw. Konstanthaltung unmöglich, zu entscheiden, inwieweit eine Änderung des O_2-Verbrauches nach Strophanthin unabhängig von der durch Starling gefundenen Gesetzmäßigkeit zustande kommt. In späteren Untersuchungen von Peters und Visscher sind diese Beziehungen durch Konstanthalten des diastolischen Volumens berücksichtigt worden. Ihre Ergebnisse stimmen mit den hier vorgetragenen weitgehend überein.

J. Frey (Freiburg/Br.): Über die renale Wirkung des k-Strophanthins.

Mit 3 Textabbildungen.

Angeregt durch die Arbeiten von Lendle u. Mitarb.[1] untersuchten wir die Frage, auf welche Weise die extrakardiale Wirkung von Digitalisstoffen auf die Nieren, wie sie 1925 von Veil u. Heilmeyer[2] am Menschen beobachtet wurde, zustande kommt.

Daß k-Strophanthin direkt auf Nierenzellen einzuwirken vermag, ließ sich aus charakteristischen intrarenalen Durchblutungsänderungen ableiten, die sich nach den Kriterien einer „Filtrationsdiurese" (J. Frey) darstellten[3, 4]. Aber auch ohne die mögliche Vermittlung über eine direkte Gefäßweitenbeeinflussung fanden wir in Barcroft-Warburg-Versuchen, daß die O_2-Zehrung von Rindenschnitten durch kleine Dosen von k-Strophanthin, die im therapeutischen bis subtoxischen Bereich liegen, vermehrt und durch große Dosen vermindert wird (Abb. 1). Diese Einwirkung des Glykosids ist aber an die Intaktheit der Tubuluszellen gebunden, nach deren Homogenisierung sich keine Änderungen des O_2-Verbrauchs unter Strophanthin mehr erkennen lassen[3, 4]. Mit Zerstörung der Zellmembran ist demnach auch die mit Sauerstoffverbrauchsänderungen einhergehende Einflußnahme des k-Strophanthins offensichtlich erloschen, wie man es auch am Herzmuskel fand[5].

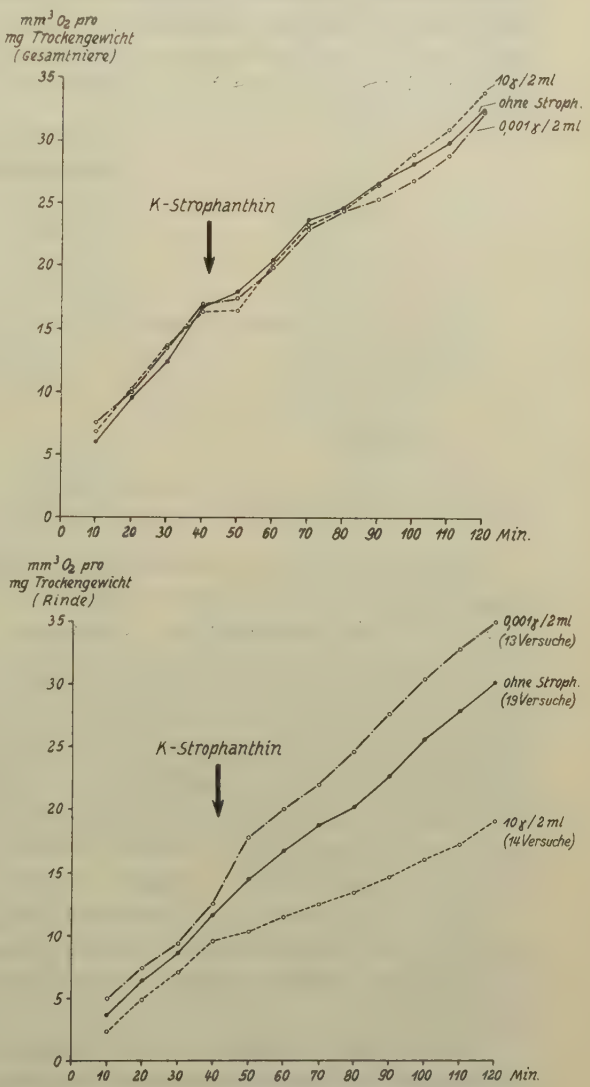


Abb. 1. Veränderungen des O_2-Verbrauchs von Nierenschnitten bzw. -homogenaten nach Zusatz von k-Strophanthin in Dosen von 0,001 γ/2 ml und 10 γ/2 ml; bei kleiner Strophanthindosis kommt es zur Steigerung, bei großer zur Senkung des O_2-Verbrauchs von Gewebsschnitten der Nierenrinde (Ratte: obere Abb.), während diese Beeinflussung der O_2-Zehrung nach Homogenisierung des Nierengewebes erloschen ist (unten).

Die unter Glykosiden (hier Strophanthin) eintretende Harnvermehrung (Diurese) erfolgt mit der der Filtrationsdiurese eigentümlichen Vasomotorik, wie Darstellungen der Nierencapillaren aufzeigen. Aber

auch Untersuchungen des Harns selbst an einem Kollektiv von 54 Mäusen legen dar, daß die Vermehrung der Harnmenge nach Strophanthin eine Filtrationsdiurese ist[4] (Abb. 2).

Zunahme von Harnvolumen und in Proportionalität damit Vergrößerung der absoluten Ausscheidung von Chloriden (und Natrium), Abnahme der Gesamtkonzentration des Harns, dagegen Gleichbleiben der Exkretion von Stoffwechselmetaboliten, wie z. B. Harnstoff, Gefäßbild und Zusammensetzung des Harns zeigen also das gleiche Resultat.

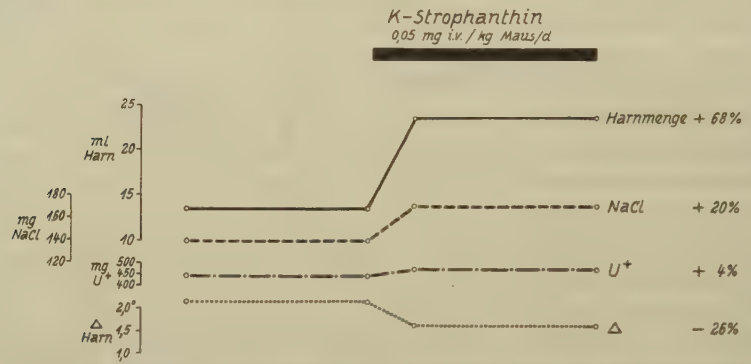


Abb. 2. Veränderungen von Harnmenge und Harnzusammensetzung unter k-Strophanthin (Summenwert von 54 Mäusen [22—24 g schwer] über eine Zeit von 4 Std): Filtrationsdiurese.

Wir hatten auf Grund verschiedener Versuchsergebnisse die These aufgestellt[5], daß es — allgemein ausgedrückt — der Eingriff einer Substanz in den Metabolismus der Tubuluszellen der Nieren ist, der eine Filtrationsdiurese auslöst. Es erhebt sich nun die weitere Frage, in welcher Weise Strophanthin in die Stoffwechselvorgänge eingreifen könnte. Wir wissen, daß einer der Synthesevorgänge in den Nieren die Ammoniakbildung aus Aminosäuren ist (Krebs[6]), die proportional der Säureelimination erfolgt[8, 9, 10]. Unter Digipurat dagegen wurde ein Rückgang der Ammoniakexkretion trotz Zunahme der Säureausscheidung gefunden (Veil u. Heilmeyer[2]); dementsprechend könnte die renale Strophanthinwirkung in diesen Vorgang der Ammoniaksynthese eingreifen.

Nach unseren Befunden wurde nun der O_2-Verbrauch von Rindenschnitten, der unter dl-Alanin ($1{,}12 \cdot 10^{-3}$ molar) durchschnittlich auf + 20% ansteigt, mit k-Strophanthin ($5{,}0 \cdot 10^{-5}$ mg%) wieder auf +12% verkleinert.

Verfolgt man ebenfalls in vitro die Ammoniakbildung nach dl-Alaninzusatz mit und ohne Strophanthin in gleichen Dosierungen, so erhält man durch das Glykosid wiederum eine Abnahme auch dieser Synthese (Abb. 3): nach dl-Alaninzusatz in einer Dosis von $1{,}12 \cdot 10^{-3}$ molar zu Rindenschnitten steigert sich die Ammoniakbildung auf 100% gegenüber

der Bildung ohne die angewandte Aminosäure; fügt man den Nierenschnitten außer Alanin noch Strophanthin ($5{,}0 \cdot 10^{-5}$ mg%) hinzu, so ist jetzt die Ammoniakbildung nur um 45% erhöht.

Es darf danach aus diesen Ergebnissen entnommen werden, daß k-Strophanthin u. a. tatsächlich die Ammoniakbildung hemmt. Dabei ist es keinesfalls ausgeschlossen, daß noch andere Einwirkungsmöglichkeiten bestehen, die nicht untersucht wurden.

Nach diesen Feststellungen ist auch das Strophanthin denjenigen Stoffen zuzuordnen, die — wenn auch in ganz verschiedenartiger Weise — in die Stoffwechselvorgänge der Tubuluszellen eingreifen (Pharmaka, Harnfixa, Gifte)[3]: diese vielfältigen Einwirkungen auf die fermentativen Transfervorgänge und deren Sekundärphänome werden von den Nieren in monotoner Weise jedesmal mit einer Filtrationsdiurese beantwortet.

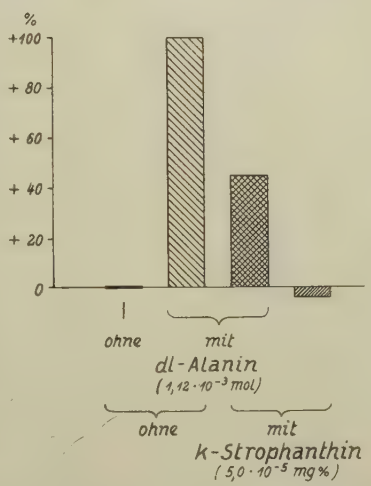


Abb. 3. Abnahme der Ammoniakbildung von Nierenschnitten (Ratte) aus dl-Alanin durch k-Strophanthin: während Alaninzusatz ($1{,}12 \cdot 10^{-3}$ molar) eine Steigerung der Ammoniaksynthese um 100% bewirkt (schräg schraffierte Säule), wird diese durch Strophanthinzusatz ($5{,}0 \cdot 10^{-5}$ mg%) auf + 45% verkleinert (gekreuzt schraffierte Säule); ohne Alanin erniedrigt sich die spontane Ammoniakbildung ebenfalls (rechte Säule).

Oder, um zum engeren Thema zurückzukehren, k-Strophanthin stellt in direkter Wirkung die Arbeitsweise der Nieren auf eine Harnbereitungsart nach dem Typ der Filtrationsdiurese um. Hierdurch wird es ermöglicht, große Flüssigkeitsmengen zur Ausscheidung zu bringen, die den Nieren zur Exkretion angeboten werden, da das Glykosid bekanntlich die Herzkraft bessert und damit die Ödeme mobilisiert.

Literatur.

[1] Lendle u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 243 (1950). — Fortschr. Ther. **10**, 274 (1934). — Inaug.-Diss. Trüpel, Göttingen 1952. — [2] Veil u. Heilmeyer: Dtsch. Arch. klin. Med. **174**, 22 (1925). — [3] Frey: Dtsch. Ges. Inn. Med. **58**, 200 (1952). — [4] Frey: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 473 (1952). — [5] Reiter u. Barron: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 341 (1952). — [6] Frey, J.: in: E. u. J. Frey: Die Funktionen der gesunden und kranken Niere. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1950. — [7] Krebs: Klin. Wschr. **1923/I**, 417. — [8] Henderson and Palmer: J. of Biol. Chem. **21**, 37 (1915). — [9] Hasselbach: Biochem. Z. **74**, 18 (1916). — [10] Beckmann: Z. exper. Med. **29**, 579, 644 (1922). — Münch. med. Wschr. **1923/I**, 417.

G. Hoffmann (Freiburg): Abhängigkeit der toxischen Digitaliswirkung von der Herzfrequenz.

Mit 1 Textabbildung.

Die bekannte Unterempfindlichkeit der Ratte gegen Digitalis beruht weder auf einer besonderen Eliminationsfähigkeit der Ratte für Digitalis noch auf einem besonderen Verteilungsverhältnis der Glykoside zwischen Herz und extracardialer Peripherie. Man findet nämlich auch am isolierten Herz im akuten Versuch die gleiche geringe Toxizität, so daß man die tatsächliche gefundene hohe Eliminationsfähigkeit der Ratte wohl mit der höheren Belastungsfähigkeit ihres Organismus mit dem weniger giftigen Glykosid erklären kann. Für die Verteilung der Glykoside hat Genuit an der Ratte früher auch „10% der letalen Dosis pro Herz" gefunden, was den Bilanzergebnissen von Weese u. Rothlin an der Katze entspricht.

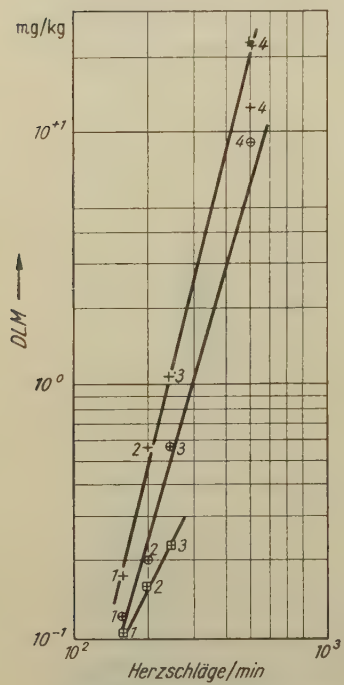


Abb. 1. *1* Katze, *2* Kaninchen, *3* Meerschwein, *4* Ratte, + Digitoxin, ⊕ k-Strophanthin, ⊞ g-Strophanthin.

Eigene neue Versuche gemeinsam mit Wienke, die Unterempfindlichkeit des Rattenherzens aus einer geringeren Kontrakturneigung oder Flimmerfähigkeit des Rattenherzens auch gegen andere Gifte zu erklären, zeigten keine Möglichkeit der Bestätigung dieser Annahme. Wir kamen aber bei unseren Versuchen auf eine neue Deutungsmöglichkeit: Aus den Untersuchungen von v. Boros u. Harrison wissen wir, daß die Frequenz, d. h. die Tätigkeit der Herzen, sich in Abhängigkeit vom Radius der Herzmuskelfaser bzw. vom Herzgewicht charakteristisch für die einzelnen Tierarten ändert. Dazu kommt, daß das „normale Herz nicht nur zahlenmäßig genormt, sondern im Bereich des harmonischen Wachstums auch konstante Proportionen seiner Elemente zeigt", wie Linzbach nachwies.

Setzt man nun die bei intravenöser Infusion gefundenen Werte für die Dosis let. minima (D. l. m.)in Beziehung zu der Herzfrequenz der einzelnen Tierarten, wie wir es für die g- und k-Strophanthin- und Digitoxin-Dosis der Ratte, des Meerschweinchens, des Kaninchens und der Katze getan haben, so zeigt sich bei der graphischen Darstellung ein parabolischer Kurvenverlauf. Im logarithmischen Maßstab liegen diese gefundenen Werte dann so nahe um eine gerade Linie, wie die Abbildung zeigt, daß wir die D. l. m. wohl als eine Funktion der charakteristischen Grundfrequenz bzw. der sie bedingenden Zelldaten bezeichnen können.

Als allgemeines Ergebnis unserer Versuche ließ sich feststellen: Die D. l. m. von Digitalis bei verschiedenen Tierarten ist dem Herzgewicht und dem Zelldurchmesser und damit der Zelloberfläche und dem Volumen umgekehrt proportional; dagegen direkt proportional der „Grundfrequenz", der größeren Zellzahl pro Raumeinheit und der „spezifischen Zelloberfläche", womit wir die Gesamtzelloberfläche pro Raumeinheit bezeichnen. Diese Tatsache ließe sich auch so formulieren: Je mehr selbständige Stoffwechselzentren pro Raumeinheit vorhanden sind, um so höher liegt die tödliche Digitalisdosis.

Ohne die möglichen Angriffspunkte von Digitalis im Stoffwechselgeschehen der Zelle zu diskutieren sei auf den Befund von Kuschinski, aufmerksam gemacht, daß bei Gegenwart von Digitalis weniger Actin bzw. Aktomyosin aus dem Herzmuskel herausgelöst werden kann, es tritt also eine Strukturverfestigung ein. Dies läßt die Hypothese an Wahrscheinlichkeit gewinnen, daß Digitalis die Strukturelemente der Zelle beeinflußt und damit natürlich auch die sich an deren Oberflächen abspielenden Stoffwechselvorgänge. Dadurch würde verständlich, daß Digitalis am Homogenat — wo die spezifischen Strukturen und Oberflächen zerstört sind — im Gegensatz zum Gewebeschnitt keine Wirkungen zeigt (Wollenberger, Rothlin u. Schoelly, Fischer, Huber u. Langemann).

Es läßt sich also sagen, daß die Größe des Herzens und die dadurch festgelegte Tätigkeit die unterschiedliche Empfindlichkeit gegen Digitalis bestimmt. Dieses entspricht auch der klassischen Formulierung der therapeutischen Digitaliswirkung, daß nämlich die Domäne der Digitalistherapie die großen hypertrophischen Herzen sind und demgegenüber die gesunden Herzen, d. h. die kleineren, als unempfindlicher zu betrachten sind (Dönhardt).

Diskussion. Lendle: Verteilungsunterschiede erklären nicht die Unterempfindlichkeit der Ratte gegen Digitalis. Das isolierte Rattenherz selbst ist schon unterempfindlich. C 14 markiertes Digitoxin wird weniger gebunden. In dieser Feststellung ist aber noch keine Erklärung für die Unterempfindlichkeit gegeben.

Wollenberger: Eine etwaige umgekehrte Proportionalität zwischen Herzzellgröße und Digitaliswirkung könnte eventuell darauf zurückzuführen sein, daß, je kleiner die Zelle, desto größer das Verhältnis zwischen Zelloberfläche und Zellvolumen oder -gewicht.

Diese Bemerkung für den Fall, daß die Digitaliswirkung an der Zellmembran stattfindet.

G. Hildebrand (Freiburg): Depressorische Adrenalinwirkung und Adrenalinumkehr.

Der depressorische Wirkungsablauf kleiner i. v. Adrenalindosen (DPA) am Blutdruck der Katze ist sehr ähnlich demjenigen einer „Adrenalinumkehr", welche durch Vorbehandlung des Tieres mit Sympathi-

colytica (Hydergin, Regitin) erzielt wurde. Experimentelle Erweiterung dieser Analogie (140 Tiere) ergibt folgendes:

1. Methodik. Art und Lebensalter der Tiere sowie die Art der Narkose beeinflussen im gleichen Sinne das Auftreten der DPA und der Adrenalinumkehr.

2. Physiologische Analyse. Die DPA ist (wie die Adrenalinumkehr) auf eine vasodilatatorische Wirkung des Adrenalins mit direktem Angriffspunkt in der Peripherie zurückzuführen.

3. Sowohl DPA als Adrenalinumkehr zeigen das als Inversion (Wandlung der depressorischen in eine pressorische Wirkung) wie das als Rückschlag (Wiederkehr der depressorischen Adrenalinwirkung) bezeichnete Phänomen.

4. Eine Inversion läßt sich durch schnell wiederholte kleine oder einmalige große i. v. Adrenalindosis oder eine Adrenalininfusion erzwingen, nicht aber durch gleiche oder sehr viel größere Dosen von Adrenalinverwandten (Arterenol, Sympatol, Veritol, Ephedrin, Pervitin). An der Nickhaut führen Adrenalininfusionen zu einer starken Sensibilisierung gegenüber Adrenalin- und Arterenolinjektionen sowie präganglionärer Reizung. Die Voraussage, daß sich die denervierte Nickhaut Sympathicolyticis gegenüber unempfindlicher verhielte als die normale Nickhaut, ließ sich experimentell bestätigen.

Im Rahmen einer Diskussion über den diesen Phänomen zugrunde liegenden Wirkungsmechanismus wird als Arbeitshypothese erörtert, ob der Organismus durch körpereigene sympathicolytisch wirkende Substanzen regulierend in das autonome Geschehen eingreifen kann.

Diskussion. Kuschinsky: Die gezeigten Abbildungen lassen anscheinend in vielen Fällen nicht eine reine depressorische, sondern eine zweiphasische Wirkung erkennen. Der Vortragende wird gefragt, welche Art von Kurvenverlauf am häufigsten beobachtet wurde.

Krause: Es wird darauf hingewiesen, daß der Ausdruck „Adrenalinumkehr" irreführend ist und die tatsächlichen Vorgänge nicht richtig wiedergibt. Vorbehandlung mit Sympathicolyticis bewirkt keine qualitative Veränderung der Adrenalinwirkung auf die maßgeblichen Kreislaufgrößen: Minutenvolumen, Schlagvolumen, peripherer Widerstand und elastischer Widerstand. Nach Vorausgabe von Sympathicolyticis tritt lediglich die Herabsetzung des peripheren Gesamtwiderstandes verstärkt in Erscheinung, weil die normalerweise eintretende Erhöhung bestimmter Teilwiderstände, die auf der vasokonstriktorischen Wirkungskomponente des Adrenalins beruht, abgeschwächt bzw. verhindert wird. Sympathicolytica bewirken keine echte „Umkehr" der Adrenalinwirkung, sondern nur eine Dämpfung der gefäßverengernden Wirkungskomponente, so daß die gefäßerweiternde Wirkungskomponente offen als Senkung des arteriellen Mitteldrucks in Erscheinung tritt.

Der starke Abfall des arteriellen Mitteldrucks, der während einer sogenannten „Adrenalinumkehr" eintritt und mit dem Hg-Manometer eindrucksvoll registriert wird, beruht vorwiegend auf einem Abfall des diastolischen Blutdrucks, wobei die Verlaufsform der einzelnen Pulse ein extremes Steilerwerden des diastolischen Druckabfalls und ein fast völliges Verschwinden der Incisur zeigt.

A. Engelhardt (Rostock) mit K. Greeff, W. Richter und H. J. Schümann: Vergleichende Untersuchungen mit Cholinestern.

Der Milchsäure- und Brenztraubensäureester des Cholins hat am isolierten Darm, am Blutdruck und am Froschherzen eine 1000—2000fach schwächere *parasympathische* Wirkung als Acetylcholin. Die *ganglionäre* Wirkung (Ggl. cervicale sup.) ist nur 2—5fach schwächer als die des Acetylcholins. Die Kontraktionswirkung am Froschrectus ist 5—10mal schwächer als die Acetylcholinwirkung. Der Milchsäureester scheint eine besonders große Affinität zum Nebennierenmark zu besitzen, da die am atropinisierten Tier nach größeren Dosen auftretenden Darm- und Blutdruckwirkungen den Wirkungen des Adrenalins gleichen; der Brenztraubensäureester auf Grund der arterenol-ähnlichen Darm- und Blutdruckwirkung eine besondere Affinität zu den sympathischen Ganglien.

Der Mandelsäureester des Cholins hat eine flüchtige atropinartige Wirkung, wie sich in Versuchen am Darm und Blutdruck zeigen ließ.

Diskussion. Brock: Die Wirkung des Mandelsäure-cholin-esters (wirks. Konz. ? 10^{-5}) gleicht weniger der des Atropins als der des Papaverins. Eine analoge Charakterisierung ergab sich auch bei Untersuchung eines anderen basischen Esters der Mandelsäure, des Diäthylaminoäthanol-Esters, der auch nur eine muskulotrope (papaverinähnliche) Wirksamkeit besitzt. Wenn man von einer atropinähnlichen Wirksamkeit spricht, gilt es, die Frage der Spezifität zu beachten (Schaumann).

Rummel zum Einwand von Brock: Die übliche Klassifizierung von Stoffen, über deren Angriffspunkt man — was spasmolytische und kontraktionshemmende Wirkung anbelangt — vom Test am Meerschweinchendarm rein phänomenologisch Schlüsse zu ziehen gewohnt war, bedarf seit der genaueren Analyse der Erscheinungen durch Feldberg einer Revision.

Greeff: Bariumchlorid besitzt sowohl ganglionäre als auch muskuläre Angriffspunkte. So wird am isolierten Darm durch ganglionär blockierende Substanzen die erregende Wirkung kleiner Bariumdosen aufgehoben, während diejenige hoher Bariumdosen unbeeinflußt bleibt bzw. sogar verstärkt wird.

Schlußwort. Engelhardt: Die Kennzeichnung der durch den Mandelsäureester ausgeübten Hemmung der Darm- und Blutdruckwirkung des Acetylcholins als atropinartig wird trotz der erhobenen Einwände für berechtigt gehalten, da sie wie diejenige des Atropins weitgehend spezifisch ist. Dosierungen, welche z. B. am Darm die Acetylcholinerregung aufheben, lassen die Histamin-, Nicotin- und Bariumwirkung fast unbeeinflußt. Die *Dosis*, die zur Erzielung bestimmter Wirkungen erforderlich ist, braucht nichts mit dem *Charakter* der Wirkung zu tun zu haben.

W. Hardegg (Heidelberg): Untersuchungen über die Hemmung der Cholinesterasen.

Bei Untersuchungen über die Kinetik der Hemmung von Cholinesterasen durch verschiedene Substanzen wird festgestellt, daß die bisherigen Anschauungen über den Chemismus der Hemmung die tatsächlichen Verhältnisse nur unzureichend erklären. Die Befunde sprechen

dafür, daß die Hemmung durch Stoffe aus der Urethanreihe aus zwei verschiedenen, vermutlich voneinander unabhängigen Komponenten besteht. Das bei der Spaltung von Acetylcholin freiwerdende Cholin hat in diesen Fällen einen bedeutenden Einfluß auf die Geschwindigkeit und den Verlauf der Substratspaltung. Es werden Überlegungen über die Vielzahl der Faktoren angestellt, die die Substratspaltung bestimmen. Diese können mit den bisher üblichen Untersuchungsmethoden nicht aufgeklärt werden. Es gibt zweifellos verschiedene Arten der Hemmung von Cholinesterasen, die möglicherweise imstande sind, die unterschiedlichen pharmakologischen Wirkungen verschiedener, in vitro an sich gleichstarker und hochaktiver Cholinesterasehemmstoffe zu erklären.

Diskussion. Wirth: Der Hinweis Wilsons (1950/51) auf den reaktionskinetischen Einfluß des bei der Acetylcholin-Spaltung freiwerdenden Cholins veranlaßte uns zu Antidot-Versuchen mit Cholin bei Vergiftungen mit insektiziden Phosphorsäureestern. Diese Versuche hatten guten Erfolg, Atropin wirkt aber besser.

K. Fromherz und B. Pellmont (Basel): Morphinantagonisten.

In letzter Zeit wird in amerikanischen Arbeiten berichtet, daß N-Allyl-nor-morphin („Nalline") die atemhemmende Wirkung morphinartig wirksamer Pharmaka aufhebt. Diese Eigenschaft kommt auch verwandten Verbindungen zu; so wurde gefunden, daß das optisch linksdrehende (—)-N-Allyl-3-oxy-morphinan die Atemwirkung von Morphin und Dromoran aufhebt. Die isomere rechtsdrehende Verbindung läßt die Atemwirkung von Morphinpräparaten völlig unbeeinflußt. Der Antagonismus der Präparate betrifft auch die analgetische Wirkung von Morphin und dessen Ersatzmitteln; so hebt 0,25 mg/kg N-Allyl-normorphin die analgetische Wirkung von 15 mg/kg Morphin an der Ratte auf. Entsprechend wirkt (—)-N-Allyl-3-oxy-morphinan, während die isomere (+)-Verbindung die Analgesie wie die Atemhemmung unbeeinflußt läßt. Es bestehen quantitative Unterschiede der antagonistischen Wirkungen, die eine Erhaltung der Analgesie bei Aufhebung der Atemhemmung in bestimmten Dosen möglich erscheinen lassen. Auch die übrigen spezifischen Morphinwirkungen werden durch (—)-N-Allyl-3-oxy-morphinan aufgehoben, so die charakteristische Schwanzreaktion an der Maus. Der schwere cerebrale Erregungszustand der Morphinkatze wird beseitigt, die hemmende Wirkung des Morphins auf den Dehnungsreflex des Meerschweinchendünndarms aufgehoben. Unterschiede der Dosenverhältnisse bei diesen Wirkungen bedürfen noch genauerer Prüfung. Nicht beeinflußt wird die Toxizität der Morphinpräparate an Arten, bei denen eine Krampfwirkung Todesursache ist, wie bei Mäusen und Kaninchen. Bei Ratten, bei denen depressive Wirkungen vorwiegen, werden die letalen Morphindosen durch den Antagonisten gesteigert. Der Antagonismus

scheint also gegen die spezifischen Wirkungen der pharmakologischen Gruppe des Morphins abgestimmt zu sein, unspezifische Krampfwirkungen aber unbeeinflußt zu lassen. Die Auffindung analoger Morphinantagonisten ist zu erwarten, doch genügt der einfache Ersatz der N-Methylgruppe durch Allyl nicht, denn N-Allyl-nor-dolantin wirkt weder gegen Dolantin noch gegen Morphin antagonistisch.

Diskussion. Unna fand, daß N-allyl-normorphin selbst ein relativ schwaches Analgeticum ist und fragt, ob N-allyl-nor-Dromoran ebenfalls eine analgetische Wirkung hat. — Antagonistische Wirkungen von N-allyl-normorphin erstrecken sich auch auf Polamidon und Codein, aber in schwächerem Maße auf Dolantin. Ist das N-allylnor-Dromoran gleich wirksam auf die morphin-, dromoran- und dolantinbedingte Atemverlangsamung? Vorbehandlung mit N-allyl-normorphin in geeigneten Dosen erhöht die tödliche Dosis von Morphin an Mäusen.

Nachtrag zur Diskussion. Pellmont: (-)-N-Allyl-nor-morphinan zeigte an Ratten bis 50 mg/kg keine analgetische Wirkung. Es wirkt auch gegen die Atemwirkung anderer morphinartig wirksamer Pharmaka antagonistisch.

H. Lüllmann (Mainz): Beiträge zur pharmakologischen Analyse der Muskelwirkung des Salyrgan.

Es wird an die Befunde von Kuschinsky, Mercker, Westermann u. Lüllmann angeknüpft, die zeigen konnten, daß Salyrgan am Rattenzwerchfell vier Wirkungen ausübt: 1. Fibrillationen mit Aktionspotentialen, 2. Verlängerung der Erschlaffungsphase von elektrisch ausgelösten Kontraktionen, 3. Ein erster schneller Tonusanstieg, 4. Eine langsam einsetzende, irreversible Kontraktur. Diese Effekte des Salyrgans können jetzt näher charakterisiert werden. Die Fibrillationen sind durch die Anticholinesterase-Eigenschaft dieser organischen Hg-Verbindungen bedingt, somit kann die Wirkung als eserinartig bezeichnet werden. Die Verzögerung der Erschlaffung, die nach Salyrgan auftritt, ist nicht unterscheidbar von dem Einfluß, den Veratrin unter gleichen Bedingungen auf die Kontraktionen ausübt. Als Ursache für den ersten schnellen Tonusanstieg kann der Verlust an Kaliumionen aus dem Zellinnern wahrscheinlich gemacht werden; es handelt sich also um eine Kontraktur durch Verminderung des Kaliumgradienten. Und die 4.Wirkung des Salyrgan, die langsam einsetzende, irreversible Kontraktur, ist mit den von uns verwandten Methoden nicht von den durch thioloprive Substanzen ausgelösten Kontrakturen (Lundsgaard-Kontraktur) abtrennbar.

Diskussion. Malorny: Die Prüfung der extrarenalen Wirkungen des theophyllinfreien Salyrgan beim Hund hat ergeben, daß bei hoher Dosierung in der Muskulatur zum Teil beträchtliche K^+-Verluste auftreten, die mit nicht äquivalenten Na^+-Aufnahmen einhergehen. Kleine Dosen von 1—2 mg/kg Salyrgan führen in der Regel zu entgegengesetzten Elektrolytaustauschvorgängen.

C. H. Schwietzer (Hamburg): Relationen zwischen Eisenkolloiden und Eiweißkörpern.

Die bei der Behandlung von Eisenmangelanämien intravenös zu verabfolgenden Eisensaccharate sind nach eigenen Untersuchungen kolloidale Hydroxo-saccharo-komplexe der Isopolybase des Eisens. Sie sind nur im stark alkalischen Milieu beständig und zerfallen bei der Verschiebung des p_H gegen den Neutralpunkt, je nach der Art ihrer Darstellung, mehr oder weniger stark in Rohrzucker und kolloidale, positiv geladene Eisenhydroxydmizellen. Letztere werden im Blut von den negativ geladenen Plasmaeiweißkörpern entladen und fallen als amorphes Eisenhydroxyd aus. Gleichzeitig kommt es zum Ausflocken der Plasmaeiweiße, und zwar zunächst der Albumine. Erst bei sehr großen Mengen kolloidalen Eisenhydroxyds flocken auch die Globuline aus. Die bei der Verabreichung einiger schlecht verträglicher Eisensaccharate auftretenden Unverträglichkeitsreaktionen sind auf das Einschließen von Thromben aus Eisenhydroxyd und ausgefälltem Albumin in Arteriolen und Capillaren und damit eine mechanische Verlegung der Strombahn zurückzuführen.

G. Stille (Uetersen): Verträglichkeitsprüfung von Eisensaccharaten.

Da die Toxizität der Eisensaccharate mit dem Herstellungsverfahren erheblich schwankt, war es notwendig, eine Methode zu erarbeiten, mit der im Tierversuch die Verträglichkeit der einzelnen Präparate bei i.-v.-Injektion ermittelt werden kann und die vor allem eine laufende Kontrolle der Präparate ermöglicht. Es zeigte sich nun, daß hierfür der Blutdruckversuch an der narkotisierten Katze besonders geeignet ist. Das Verhalten der einzelnen Präparate auf den Blutdruck bei i.-v.-Injektion ist sehr unterschiedlich: einzelne Präparate werden noch in einer Dosis von 100 mg Fe/kg ohne stärkere Senkung des Blutdruckes vertragen, während andere schon bei 20 mg Fe/kg zu einem stärkeren nicht reversiblen Blutdruckabfall führen.

Die Ursache des Blutdruckabfalls wird in einer histologisch an über 100 Katzen nachgewiesenen Verlegung der Lungengefäße durch Eisenthromben gesehen, die besonders eindrucksvoll bei denjenigen Tieren ist, bei denen es während der Injektion zu einem Blutdruckabfall gekommen war. Auch ein Anstieg des Venendruckes schon bei Dosen, die noch zu keiner stärkeren Reaktion des arteriellen Blutdruckes führen, spricht für den Zusammenhang zwischen den Eisenausfällungen in den Lungengefäßen und dem Abfall des arteriellen Blutdruckes. Das Verhalten von arteriellem Blutdruck und Venendruck gleicht dem bei der experimentellen Lungenembolie (Hachmeister).

Die Zusammenhänge zwischen dem Verhalten des arteriellen und venösen Druckes sind also so zu deuten, daß der Anstieg des Venendruckes durch eine zunehmende Rückstauung des Blutes vor der Lunge entsteht, während die arterielle Blutdrucksenkung immer dann eintritt, wenn die Gefäßreserven der Lunge nicht mehr ausreichen und der rechte Ventrikel dem vermehrten Widerstand im kleinen Kreislauf nicht weiter gewachsen ist. Die Deutung des Blutdruckabfalls nach Injektion von Eisensaccharaten als Wirkung freier Eisenionen muß nach diesen Befunden abgelehnt werden.

Da die Neigung zur Bildung von Niederschlägen bei den einzelnen Präparaten sehr unterschiedlich ist und gerade hierdurch die Verträglichkeit der einzelnen Präparate begrenzt zu werden scheint, kann der Blutdruckversuch als Test für die Stabilität und damit für die Verträglichkeit des einzelnen Präparates gelten.

Diskussion. Heubner bezeichnet die intravenöse Injektion von Eisenpräparaten mit mehr oder weniger verhülltem Eisenhydroxyd als Unfug. Es handelt sich offensichtlich um eine Kombination einer unspezifischen Reiz- mit einer Eisentherapie.

N. Gerlich (Bielefeld): Methionin bei der Blei-Anämie.

In früheren Untersuchungen konnten wir zeigen, daß das Ausmaß der Blei-Anämie, wie sie bei Kaninchen durch i.-v.-Injektion von Bleiacetat innerhalb einiger Tage erhalten werden kann, verringert und das Auftreten hinausgezögert wird, wenn zu gleicher Zeit mit dem Bleiacetat antiperniziös wirksame Leberextrakte injiziert werden.

Weiter zeigte sich, daß das Vitamin B_{12} ebenfalls einen solchen vorbeugenden Effekt besitzt. Verglichen mit dem Vitamin-B_{12}-Gehalt der antiperniziös-wirksamen Leberextrakte, erweist sich die alleinige Zufuhr von Vitamin B_{12} als nicht so wirksam. Das entspricht auch klinischen Erfahrungen. Die Folsäure zeigt eine etwas geringere Wirkung. Diese Beobachtungen wurden kürzlich in der anglo-amerikanischen Literatur bestätigt. Die verhütende Wirkung dieser Wirkstoffe wurde als „Protecting action" bezeichnet.

Verantwortlich für die Blei-Anämie wird nach Kanch u. Mitarb. eine Störung der Protoporphyrinsynthese angesehen. Nach Vanotti ist der Eiseneinbau in den Porphyrinring gestört. Fields und Wood halten eine allgemeine Fermentstörung für wesentlich. Besondere Affinität besitzt das Blei zu jenen Fermentsystemen, die als aktive Gruppen Sulfhydrile besitzen. Wenn also gegen eine Bleivergiftung vorgebeugt werden soll, so muß das durch schwefelhaltige Körper möglich sein, in erster Linie durch Zufuhr physiologischer Stoffe, also schwefelhaltiger Aminosäuren. Tatsächlich zeigt sich im Experiment am Kaninchen, daß

das Methionin bei mittlerer Dosierung eine „Protecting action" besitzt. Cystin in einer Menge zugeführt, die dem gleichen Gehalt an Schwefel wie dem des zugeführten Methionin entspricht, hat keinen so günstigen Effekt. Bei gleichzeitiger Zufuhr von Methionin und Folsäure bzw. Methionin und B_{12} und Methionin, Folsäure und B_{12} bei der Bleiapplikation kann die Methioninwirkung bedeutend verstärkt werden. Die Dosen an B_{12} und Folsäure waren dabei wesentlich geringer als diejenigen, die allein schon eine vorbeugende Wirkung entfalten. Es muß also geschlossen werden, daß es nicht nur auf die Zufuhr von schwefelhaltigen Körpern ankommt, um eine akute Blei-Anämie aufzufangen, sondern auch auf Wirkgruppen, die, wie die Methyl-Gruppen des Methyldonators Methionin, unter dem Einfluß der Folsäure stehen.

Bei den Säugetieren ist nicht die Folsäure selbst der eigentliche Wirkfaktor, sondern der unter dem Einfluß einer Konjugase aus Folsäure entstehende Citrovorumfaktor. Die Konjugase ist ein SH-haltiges Enzym, das durch Blei inaktiviert wird, durch Schwefelgruppen aber aktiviert werden kann. Die Umwandlung von Folsäure in den Citrovorumkörper wird durch Vitamin B_{12} gefördert. Der Citrovorumfaktor wirkt in zweierlei Weise auf die Blutbildung ein. Erstens werden die Methylgruppen der Methyldonatoren, z. B. des Methionins, Betains, Cholins, mobilisiert und an das Uracil angelagert. Es entsteht also Thymin, das unter dem Einfluß von B_{12} in das Desoxyribosid des Thymins — das Thymidin — umgewandelt wird. Das Thymidin ist für den Aufbau der Erythrocyten aber eine unentbehrliche Substanz. Weiterhin ist der Citrovorumfaktor notwendig für die Porphyrinsynthese. Er besorgt die Einlagerung der Methylgruppen. Auf diese Weise erklärt sich, warum die Zufuhr von Methionin, also einer Aminosäure, die sowohl Schwefelgruppen als auch Methylgruppen enthält, bei der akuten Bleivergiftung von Wirkung sein kann.

Neuerdings haben Thoelen u. Mitarb. feststellen können, daß bei der akuten Bleivergiftung der Cystingehalt in Blut und Leber stark erhöht ist. Es handelt sich hierbei offenbar um einen Versuch, die Entgiftungsfunktionen zu erhöhen.

K. H. Ginzel, H. Klupp, G. Werner (Wien): Die Veränderung der Wirkungsweise von Decamethonium (C 10) durch eine Polymethylenbisphosphoniumverbindung.

Aliphatische Bis-Triäthyl- und Bis-Triphenylphosphoniumbasen mit 4—10 Methylengruppen in der Kette* lähmen die neuromuskuläre Erregungsübertragung in der Versuchsanordnung an der Taube[1] nach dem

* Diese Substanzen wurden uns von der Firma Dr. K. Thomae Ges. m. b. H. Biberach/Riss zur pharmakologischen Untersuchung zur Verfügung gestellt.

Wirkungstypus von d-Tubocurarin (d-TC). Ebenso wie d-TC weisen diese Verbindungen einen Antagonismus gegenüber Kontraktursubstanzen von der Art des C 10 auf. Die Decamethylen-bis-triphenylphosphoniumverbindung (Q 13) zeigt darüber hinaus noch eine Veränderung der Wirkung von C 10 insofern, als an Stelle der Kontraktur eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit in Erscheinung tritt; diese Lähmung entspricht in ihrem zeitlichen Ablauf der durch die gleiche C 10-Dosis am normal reagierenden Muskel ausgelösten Kontraktur. Das Phänomen ist naturgemäß erst nach Abklingen der kurzdauernden Lähmung durch Q 13 in vollem Umfange zu beobachten und kann im Verlaufe von weiteren 30—50 min durch Injektion entsprechender Dosen von C 10 hervorgerufen werden. Erst nach etwa 12 min erlangt der Muskel wieder seine anfängliche Reaktionsweise gegenüber C 10. Auch andere Kontrakturstoffe vom Typus des C 10 (z. B. Adipin-Bischolin u. ä.) erfahren unter dem Einfluß von Q 13 die beschriebenen Veränderungen des Wirkungsbildes. Die Kontraktur durch Acetylcholin jedoch wird im Vergleich zu jener nach C 10 usw. durch Q 13 in wesentlich geringerem Maße antagonistisch beeinflußt und wird nicht in eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit umgewandelt.

Literatur.

[1] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Verh. dtsch. pharmak. Ges., 18. Tgg. 1951.

H. Klupp, K. H. Ginzel und G. Werner (Wien): Elektive Hemmung des Patellarsehnenreflexes durch peripher wirkende Stoffe.

Decamethonium (C 10) sowie einige Bis-Cholinäther[1] lähmen den Patellarsehnenreflex (PSR) bereits in einem Dosenbereich, in dem weder Flexor- und kontralateraler Extensorreflex noch die indirekte Erregbarkeit des Vergleichsmuskels (M. Quadriceps der Gegenseite) beeinflußt werden; dieser Muskel wurde vom zugehörigen Nerven aus durch supramaximale Einzelreize sowie durch Tetani einer Frequenz von 20 pro Sekunde gereizt. Diese Frequenz entspricht der Impulsfolge, die bei reflektorisch ausgelösten Muskelkontraktionen in Einzelfasern nachgewiesen wurde[2]. In Versuchen mit isolierter Durchströmung der Hinterextremitäten stellten wir fest, daß die Ausschaltung des PSR durch die genannten Substanzen nicht durch eine Wirkung auf das Zentralnervensystem bedingt ist. Da für die elektive Lähmung des PSR durch diese Stoffe offenbar weder eine neuromuskuläre noch eine zentrale Wirkung verantwortlich ist, nehmen wir an, daß der beschriebene Effekt auf einer Beeinflussung der Funktion des Spindelapparates der Skeletmuskulatur beruht. Interessanterweise ist es möglich, diese Ausschaltung des PSR durch elektrische Reizung reflexsteigernder Gebiete der formatio reticularis des Hirnstammes zu durchbrechen.

Literatur.

[1] Ginzel, K. H., H. Klupp, G. Werner u. H. Stormann: Arzneimittelforschg. 2, 271 (1952). — [2] Gordon, G., and A. H. S. Holborn: J. of Physiol. 110, 26 (1949).

Diskussion. Thesleff: Eine Untersuchung der Einwirkung von muskelerschlaffenden Mitteln auf die Muskelspindeln ist von Granit, Skoglund und mir ausgeführt worden. Die Untersuchungen wurden an der Katze gemacht und zeigten, daß Succinyl-Cholin-Jodid schon in nicht lähmenden Dosen eine sehr kräftige Reizung der Muskelspindeln verursachte. Dasselbe war der Fall mit Decamethonium, das jedoch eine deutlich schwächere, langdauernde und mehr unregelmäßige Wirkung hatte. In Vorversuchen haben wir bemerkt, daß, wenn dieser kräftige afferente Impulsstrom von den Muskelspindeln durch Succinyl-Cholin-Jodid ausgelöst wird, eine Hemmung von monosynaptischen Reflexen im Rückenmark eintritt. Diese Hemmung haben wir als eine Blockierung erklärt, verursacht von der großen Anzahl von afferenten Impulsen. Diese Beobachtungen dürften die Erklärung zu dem von Klupp beschriebenen Reflexausfall ausmachen.

St. Thesleff (Stockholm): Experimentelle Untersuchungen am Menschen mit Succinylcholinjodid.

Die Untersuchung, die unter klinischen Bedingungen durchgeführt wurde, zeigte, daß eine Injektion von Succinylcholinjodid zu einer schnell einsetzenden Muskellähmung führte, die bei der gegebenen Dosis innerhalb 1 min ihr Maximum erreichte. Mit zunehmender Dosis nimmt auch die Dauer der Lähmung von 1—10 min zu. Das Verhältnis zwischen der Dosis, welche die periphere Skelettmuskulatur lähmte, und der Dosis, die zur Lähmung der Zwerchfellmuskulatur führte, war etwa 1 : 2. Wiederholte Injektionen führten zu keiner Kumulation oder Tachyphylaxie. Verschiedene Narkosemittel beeinflußten die muskellähmende Wirkung des Succinylcholinjodids nicht. Gegenüber der vom *d*-Tubocurarin und Flaxedil hervorgerufenen Muskellähmung zeigte Succinylcholinjodid eine antagonistische Wirkung.

Mit einer langsamen intravenösen Tropfinfusion war es möglich, eine lang andauernde und leicht steuerbare Muskelentspannung zu erreichen. Bei künstlicher Beatmung mit Überdruck hatte Succinylcholinjodid keine Einwirkung auf Herzfrequenz und Blutdruck. Bei intrakutaner Injektion konnte kein Freiwerden von Histamin beobachtet werden. An nicht narkotisierten Versuchspersonen wurden keine EEG-Veränderungen, die mit dem Mittel im Zusammenhang stehen konnten, gefunden.

V. Erspamer (Bari, Italien): Murexin.

Das Murexin ist eine aktive Substanz, welche in der medianen Zone der Hypobranchialdrüse der Purpurschnecken enthalten ist. Der Murexingehalt dieser Drüse vermag außerordentlich hoch zu sein: er kann bei *Murex trunculus* sogar 20—40 mg Base pro Gramm frischen Gewebes betragen.

Chemisch ist das Murexin als β-[Imidazolyl-(4)]-acryl-cholin oder Urocanylcholin zu identifizieren. Das Cholin wird also bei den Purpurschnecken durch die Urocaninsäure esterifiziert, ein mögliches Zwischenprodukt des Histidinabbaues, welches bis jetzt nur bei den Säugetieren bekannt war.

Die Strukturformel der Substanz wurde durch das analytische Studium des Dipikrates und des Hydrochlorids des natürlichen Murexins sowie durch das Studium der Produkte der sauren Hydrolyse der Substanz festgestellt und wurde endgültig durch die von uns kürzlich ausgeführte Synthese des Urocanylcholins bestätigt.

Pharmakologisch zeigt das Murexin ausgeprägte curare- und nicotinartige Wirkungen; es besitzt dagegen keinerlei muscarinartige Effekte.

Murexin kontrahiert den Froschrectus und den nicht eserinisierten Blutegelmuskel, ruft lebhafte Verschlingungsbewegungen der amputierten Tentakeln der Octopoden hervor sowie eine starke Mydriasis und eine tumultuarische Ausbreitung der Irischromatophoren des isolierten Octopodenauges, verursacht beim Hunde eine erhebliche Speichelsekretion und eine weniger auffallende Sekretion der Bronchial- und Tränendrüsen, erregt vorübergehend die Atmung, wahrscheinlich auf zentralem Wege, erhöht den Blutdruck (besonders bei der decerebrierten Katze) vermutlich durch Ausschüttung von Medulloiden und Freisetzung von Sympathin.

Alle diese Effekte sind als nicotinartig angesehen.

Die curareartige Aktivität des Murexins zeigt sich sowohl bei den Weichtieren (das *Mytilus galloprovincialis* z. B. öffnet seine Valven und wird somit zur Beute des *Murex trunculus*) als auch bei den Fischen, den Fröschen und den Säugetieren.

Beim Kaninchen beträgt die „head-drop"-Dosis ungefähr 0,7 mg/kg, d. h. sie ist, molar ausgedrückt, 10—12mal größer als diejenige des *d*-Tubocurarins und 5mal größer als diejenige des Flaxedils.

Nach intravenöser Verabreichung beträgt die mittlere tödliche Dosis des Murexinhydrochlorids bei der Maus 8,5 mg/kg. Diese Dosis ist 100 bis 120mal höher als diejenige des *d*-Tubocurarins und 5mal höher als diejenige des Flaxedils.

Frösche werden durch 15—20 mg/kg Substanz curarisiert.

Hunde unter künstlicher Atmung überleben mehr als 50 atmungslähmende Dosen von Murexin. Die spontane Atmung tritt wieder nach 4—6 Std zurück.

Vor dem Eintreten und beim Aufheben der vollständigen Lähmung sind öfters fasciculäre Zuckungen der Muskeln zu beobachten.

Bei der Taube ruft die intravenöse Injektion von Murexin spastische Erscheinungen (Streckkrampf der Beinmuskulatur, Opisthotonus) und

zugleich Myosis und Darmentleerung hervor. Die kleinste aktive Dosis beträgt ungefähr 0,05 mg/kg, die tödliche Dosis 0,2—0,4 mg/kg.

Bei den Vögeln verhält sich daher das Murexin ganz analog dem Succinylcholin und scharf verschieden vom *d*-Tubocurarin: es ist wahrscheinlich, daß es zu den decamethonium-ähnlichen Substanzen zu rechnen ist.

Die pharmakologischen Untersuchungen über Murexin werden weitergeführt. Syntheseversuche murexin-ähnlicher Produkte sind im Gange.

D. Haas (Ludwigshafen): Untersuchungen mit einem synthetischen Curare-Präparat.

Einige Pflanzen aus der Familie der Menispermaceae, sowie die Berberis vulgaris (Berberidaceae) und der Phaeanthus ebracteolatus (Anonaceae) enthalten tertiäre Basen, die sich in ihrem chemischen Aufbau bei sonst identischer Grundformel vom *d*-Tubocurarin durch die Anordnung und Aufeinanderfolge der Isochinolin- und phenolischen Gruppen bzw. durch das Fehlen einer Ätherbindung, Aufspaltung des Ringsystems oder durch eine ringförmige Verknüpfung der beiden Isochinolinringe in Form zweier Sauerstoffbrücken unterscheiden. Wenn man diese tertiären Pflanzenbasen in die entsprechenden quartären Ammonium-Derivate umwandelt, so entfalten sie curareartige Wirkungen, die je nach dem pflanzlichen Ausgangsmaterial in der Wirkungsintensität und in den Nebenwirkungen differieren. Nach Marsh und Herring sollen Berbamin und Phaeanthin in Form der quartären Basen keine Nebenwirkungen entfalten und gleichzeitig starke curareähnliche Eigenschaften ausüben.

Im Vergleich zu diesen Substanzen wurde eine synthetisch hergestellte Verbindung geprüft, die sich vom Dauricin, dem Inhaltsstoff von Menispermaceum dauricum, lediglich durch das Fehlen einer OH-Gruppe an einer der beiden Benzyl-isochinolin-Gruppen unterscheidet. Diese Verbindung erwies sich bei der Prüfung am Hund etwa gleich stark wie *d*-Tubocurarin und entfaltete geringere Nebenwirkungen. Sie führt weiterhin nicht zur Ausschüttung von Histamin und übt am Trachealring des Meerschweinchens keine bronchokonstriktorischen Eigenschaften aus. Sie wirkt jedoch in ähnlichem Umfang wie das d-Tubocurarin blutdrucksenkend, wobei dieser Effekt — in gleicher Weise wie beim *d*-Tubocurarin — weder durch eine Vorgabe von Antihistaminen bzw. Atropin beseitigt werden kann. Dieser Blutdruckabfall schlägt an der decapitierten Katze nach der Blockade der ganglionären Umschaltestationen im Gegensatz zu dem Verhalten von *d*-Tubocurarin in einen Blutdruckanstieg um, der durch Ergotamin-Tartrat wiederum in eine Blutdrucksenkung umgekehrt wird. Eine weitere Nebenwirkung besteht

in einer Tachykardie, die bei stoßweiser Zufuhr an Hund und Katze stärker als beim *d*-Tubocurarin in äquieffekten Dosen auftritt. Diese Wirkungskomponente tritt bei langsamer Infusion weitgehend zurück und ist durch eine gleichzeitige Äthernarkose ebenfalls abzuschwächen.

Im Versuch an Kaninchen ist diese Substanz bei gleicher therapeutischer Breite dem *d*-Tubocurarin an Wirkstärke erheblich überlegen. Orientierende Versuche an nicht narkotisierten, gesunden Menschen zeigten jedoch, daß man unter diesen Bedingungen etwas größere Mengen als beim *d*-Tubocurarin benötigt. Durch die Einfügung einer weiteren Methoxygruppe in beide Isochinolinringe bzw. durch einen Ersatz der beiden Methoxygruppen durch eine Dioxymethylenbrücke wird die therapeutische Breite erheblich herabgesetzt, so daß zwischen der Head-Drop- und der tödlichen Dosis nur noch ein geringer Abstand gegeben ist.

Im übrigen entfaltet das Desoxy-Dauricin echte curareartige Wirkungen. Am Rectus abdominis des Frosches wirkt es nicht erregend, und auf Acetylcholin wirkt es an diesem Objekt im gleichen Konzentrationsbereich wie *d*-Tubocurarin antagonistisch. Am Vogel entfaltet es nur lähmende und keine erregenden Wirkungen, zusammen mit Tubocurarin wirkt es additiv, auch Äther verstärkt die Wirkung. Prostigmin ist antagonistisch brauchbar und wirkt etwas schwächer als beim *d*-Tubocurarin. Bei einer prophylaktischen Zufuhr von Prostigmin erhöht sich die Head-Drop-Dosis am Kaninchen beträchtlich. Abweichend vom *d*-Tubocurarin kommen ihm stärkere cholinesterase-hemmende Wirkungen zu; außerdem unterscheidet es sich vom *d*-Tubocurarin in der Ansprechbarkeit der verschiedenen Tierarten, da Ratte und Maus am unempfindlichsten reagieren, Katze und Hund eine hohe Empfindlichkeit aufweisen. Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal ist durch die primäre Erregung der ganglionären Umschaltstationen gegeben, die erst sekundär in eine Lähmung umschlägt.

Das synthetisch gewonnene Desoxy-Dauricin-dijodid-methylat unterscheidet sich somit in seiner Wirkungsart trotz des nahezu gleichen Aufbaus von den natürlich vorkommenden Pflanzenalkaloiden und ist innerhalb des Wirkungsspektrums der verschiedenen curareähnlichen Substanzen durch eigene Wirkungsqualitäten gekennzeichnet.

Literatur.

Marsh, D. F., u. D. A. Herring: Experientia **6**, 31 (1950).

D. Heinrichs und W. Rummel (Düsseldorf): Curare-Wirkungen am Ratten-Uterus.

Bewegungen am isolierten Ratten-Uterus von nahezu mechanischer Regelmäßigkeit lassen den Gedanken an einen ganglionär gesteuerten Mechanismus aufkommen. Feldberg hat die pharmakologische Bedeutung

der intramuralen Ganglien für den Meerschweinchendarm nachgewiesen. Übereinstimmend mit der Literatur ergab die von Prof. Meessen am Ratten-Uterus in 300 Serienschnitten freundlicherweise durchgeführte histologische Untersuchung, daß hier offenbar intramural keine ganglionären Zellelemente vorhanden sind. Der pharmakologische Beweis läßt sich mit Nicotin erbringen, das im Unterschied zum Feldbergschen Objekt am Ratten-Uterus weder in niedrigen noch in hohen Dosen wirksam ist. Der Uterus ist demnach als ein einfacher strukturiertes Organ anzusehen, bestehend aus glatten Muskelzellen mit den dazugehörigen Nervenverzweigungen, aber ohne intramurale ganglionäre Steuerung. Wir sind gewohnt, die motorische Endplatte und die ganglionäre Synapse, physiologisch und morphologisch genau charakterisierte Bestandteile der Erregungsübertragung, als Vorbedingung für die Curarewirkung anzusehen. Um so erstaunlicher ist es, daß die typischen Verhaltensweisen, die wir von diesen Substraten her kennen, sich auch an unserem Objekt demonstrieren lassen.

Unsere Versuche zeigen, daß *d*-Tubocurarin in deutlicher Konzentrationsabhängigkeit die Spontanrhythmik des isolierten Uterus in ihrer Frequenz reduziert bis zur Lähmung, die voll reversibel ist. Die gleiche Wirkung läßt sich mit synthetischen quaternären Stickstoffverbindungen erzielen. Bei den rhythmischen Kontraktionen scheint Acetylcholin (ACh) eine Rolle als Aktionssubstanz zu spielen, denn bei einem Präparat ohne Spontanaktivität lassen sich mit ACh über lange Zeit ähnliche rhythmisch-präzise Bewegungen auslösen, wie sie bei der Spontanrhythmik beobachtet werden. Eigenartig ist, daß diese Wirkung des ACh über lange Zeit anhält, die an sich wegen der schnellen Spaltung durch die Cholinesterase außerordentlich flüchtig sein sollte. Konsequenterweise läßt sich auch mit Physostigmin der gleiche Effekt erzielen, und Curare vermag dann gleichfalls die Frequenz zu reduzieren. Da Physostigmin eine derartige ACh-ähnliche Wirkung hat, vermag es, einen Curareblock aufzuheben und zeigt damit auch an unserem Objekt seine typische Anticurarewirkung. In weiterer Parallele zum quergestreiften Muskel lähmt Physostigmin in hohen Dosen curareartig. Der gezeigte Curareeffekt ist keineswegs nur als unspezifische atropinartige Wirkung anzusehen, wenn auch eine niedrige Dosis von Atropin in bekannter Weise eine ACh-Kontraktion aufhebt. In höheren Dosen jedoch wirkt Atropin mit einer deutlichen Frequenzerhöhung ACh-ähnlich, ja, es kann sogar eine Kontraktur bewirken, was Curare wiederum wie auch sonst beeinflußt. Andererseits kann sogar eine Curarelähmung genau wie mit ACh auch durch Atropin aufgehoben werden. Es lassen sich dabei solche Dosen von ACh finden, die den Curareblock gerade wieder bis zu einer Restitution der Normalfrequenz durchbrechen. Für Barium und Kalium läßt sich im Prinzip das Gleiche zeigen.

Unsere Versuche zeigen damit, daß sich trotz des grundsätzlichen Unterschiedes zum quergestreiften Muskel an unserem Objekt, dem Ratten-Uterus, ganz ähnliche Curare- und Anticurarewirkungen zur Darstellung bringen lassen.

Diskussion. Greeff: Nach unseren Untersuchungen ist der Rattenuterus zur Zeit der Geburt, dem einzigen Zeitpunkt, an dem bei dieser Tierart auch Arterenol nicht inhibitorisch, sondern excitatorisch wirkt, durch Nicotin erregbar. Die Nicotinunempfindlichkeit des Rattenuterus gilt also nicht für alle Zeiten des Sexualzyklus.

G. Malorny (Kiel): Versuche zur Aufhebung der Dekamethonium-Lähmung am Reflex- und Nervmuskelpräparat der Katze.

Es war zu prüfen, ob Dekamethonium (DKM) und d-Tubocurarin (d-TC) am Reflex- und Nervmuskelpräparat einen wechselseitigen Antagonismus zeigen und ob es gemeinsame Antidote gegen die lähmenden Wirkungen beider Stoffe gibt.

Die Untersuchungen wurden gemeinsam mit F. K. Ohnesorge an der dekapitierten und dezerebrierten Katze angestellt. Geprüft wurden der homolaterale Beugereflex der einen Seite und die indirekt ausgelösten Gastrocnemiuszuckungen am anderen Bein. Hierfür wurden an den zentralen Stumpf des N. peronaeus bzw. an den peripheren Stumpf des N. tibialis Reizelektroden angelegt. Als Reizgeräte dienten 2 Megateste. Durch einen gleichmäßig laufenden Unterbrecher konnten die Geräte alternierend alle Minuten für die Dauer von 1—2 sec eingeschaltet werden. Für die Registrierung der Reflex- und Muskeltätigkeit wurden Keith-Lucas-Hebel in der Modifikation von Koll angewandt. — In zahlreichen Fällen wurden auch Reizzeit-Stromstärkekurven bei direkter und indirekter Reizung angelegt.

Die lähmende Wirkung des DKM am Rückenmark tritt rascher und nachhaltiger ein als bei Injektion von d-TC. Die Muskelzuckungen kehren früher als die Reflexe wieder. Die Muskeltetani werden gut gehalten. Dies sind wesentliche Unterschiede zur Curarewirkung. Eine zweite DKM-Gabe führt praktisch zum gleichen Lähmungsablauf. Es tritt keine Tachyphylaxie ein. Variiert man den Versuch, indem man nach Abklingen der ersten DKM-Gabe eine wirksame Dosis von d-TC verabfolgt, so ist nach Wiederkehr der Reflexe eine zweite, gleichgroße DKM-Gabe fast wirkungslos.

Die d-TC-Lähmung kann am Reflexpräparat durch DKM auch direkt antagonistisch beeinflußt werden. Die Aufhebung der DKM-Lähmung durch d-TC ist jedoch schwieriger zu erreichen; sie gelingt, wenn man das Antidot sehr niedrig dosiert und bis zum eben wahrnehmbaren Einsetzen der Reflexe wartet. Der wechselseitige Antagonismus von d-TC

und DKM läßt sich weiterhin an Hand von Reizzeit-Stromstärkekurven bei direkter und indirekter Reizung nachweisen. Die Beseitigung der Lähmung am Muskel geht mit einer Verminderung der Summationserscheinung und einer Verkürzung der Chronaxie bis fast zur Norm einher.

Auf der Suche nach Mitteln, die sowohl die Lähmung des d-TC als auch die des DKM aufzuheben vermögen, sind wir zunächst auf die Ca-Ionen gestoßen. Beide Lähmungszustände können durch eine Ca^{++}-Zwischeninjektion wesentlich abgemildert werden. Da Ca^{++} auch die Mg^{++}-Lähmung beseitigt, kommen ihm allgemein decurarisierende Eigenschaften zu. Die Ca^{++}-Wirkung ist offenbar als Verdrängungsmechanismus aufzufassen. Aus der Tatsache, daß die Mg^{++}-Lähmung, zumindest vorübergehend, durch DKM gebessert werden kann, ist zu schließen, daß sie mehr Ähnlichkeit mit der d-TC- als mit der DKM-Lähmung aufweist. Ca^{++} bei großer Dosierung wirkt auf die Reflex- und Muskelzuckungen stark dämpfend, ähnlich wie Mg^{++} bei sehr niedriger Dosierung, mit dem Unterschied, daß dann die Mg^{++}-Wirkung kurzdauernder ist. Somit greifen also Ca^{++} und Mg^{++} an den gleichen Receptoren an.

Als weiteres Antidot gegen DKM und d-TC ist das Coffein zu nennen. Die Beseitigung der Curarelähmung durch Coffein ist lange bekannt; nicht untersucht ist bisher jedoch seine Wirkung auf die DKM-Lähmung. Dieser Antagonismus gelingt fast regelmäßig. Coffein steigert die Reflexe, ebenso wie Strychnin. Strychnin verbessert aber nicht die peripher ausgelösten Muskelzuckungen. Da Coffein auch die Muskelkontraktionen verbessert, ist es bei der DKM-Lähmung das bessere Antidot.

G. Werner, K. H. Ginzel, H. Klupp (Wien): Zur Wirkung des Nicotins auf das Rückenmark.

Nicotin schaltet bekanntlich den Patellarsehnenreflex (PSR) durch eine Wirkung auf das Rückenmark vorübergehend aus[1]. Diese Hemmung des PSR wird durch Myanesin nicht beeinflußt, während der Effekt einer reflexhemmenden Reizung der formatio reticularis des Hirnstammes durch die gleiche Dosis von Myanesin aufgehoben wird; gleichzeitig damit bleibt unter Myanesin auch die PSR-Hemmung bei Reizung des zentralen Ischiadicusstumpfes der Gegenseite aus[2]. Die PSR-Hemmung durch Nicotin zeigt somit nicht die Charakteristica eines multisynaptischen Effektes. Durch elektrische Reizung fördernder Gebiete der Formatio reticularis wird die Ausschaltung des PSR nach Nicotin für die Dauer der Reizung durchbrochen. Die reflexhemmende Wirkung des Nicotins betrifft nicht den Flexor- und gekreuzten Extensorreflex;

Nicotin lähmt demnach nicht die motorischen Wurzelkerne selbst. Hingegen hängt die Reflexhemmung durch Nicotin vom Dehnungszustand des M. Quadriceps ab: sie tritt nämlich um so stärker in Erscheinung, je geringer die anfängliche Muskelspannung ist. Nicotin bewirkt offenbar in den geringen, zur Reflexausschaltung erforderlichen Dosen (50 bis 100 mg/kg) eine Erschwerung der Erregungsübertragung in den entsprechenden Synapsen des Rückenmarkes; unter solchen Umständen ermöglicht eine Zunahme der „background activity" sowohl durch verstärkte Ruhedehnung des Muskels als auch durch Reizung der reflexfördernden Zentren eine Verbesserung des Reflexablaufes.

Literatur.

[1] Schweitzer, A., and S. Wright: J. of Physiol. 94, 136 (1938). — [2] Henneman, E., A. Kaplan and K. Unna: J. of Pharmacol. 97, 331 (1949).

F. Heim (Marburg): Der Einfluß ganglienblockierender Mittel auf Kreislaufreflexe.

An der künstlich beatmeten Katze werden durch Tetraäthylammonium und Pendiomid die blutdrucksenkende und pulsverlangsamende Wirkung der elektrischen Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfs, der Veratrinreflex, die Kontraktion der Nickhaut bei elektrischer Reizung der präganglionären Fasern des Halssympathicus und der Carotissinus-Entlastungsreflex abgeschwächt bzw. aufgehoben, in der Regel dagegen nicht die während Kohlensäurebeatmung und die während und im Anschluß an einen Stillstand der Atmungspumpe von 3 min Dauer auftretende Blutdrucksteigerung. Sie wird im Gegenteil ebenso wie die blutdrucksteigernde Adrenalin- und Arterenolwirkung meist erheblich verstärkt. Diese durch exogene bzw. endogene Kohlensäure hervorgerufene reflektorische Blutdrucksteigerung besteht auch nach Entfernung beider Nebennieren, ist aber durch Yohimbin zu unterdrücken.

P. Pulewka und Sch. Kaymaktschalan (Ankara): Der Einfluß von Hyaluronidase auf die Wirkung einiger Mydriatica.

Bei konjunktivaler Anwendung am Mäuseauge wirkten Mydriatica wie Novocain und Atropin nach Zusatz von Hyaluronidase früher und stärker, Atropin auch länger als ohne das Ferment.

Bei subcutaner Injektion an Mäusen und Ratten wurde die resorptive Wirkung der Mydriatica durch Zusatz von Hyaluronidase nicht gleichartig verändert. Unter dem Einfluß des Fermentes wirkte z. N. Novocain an Mäusen etwas schneller, aber nicht stärker, an Ratten viel früher und stärker, oft auch länger, Atropin bei Mäusen und Ratten verzögert und

schwächer, Pantocain bei Ratten manchmal, aber nicht immer, viel schneller und stärker als ohne Hyaluronidase. Die Befunde zeigen, daß der Hyaluronidase-Effekt auf resorptive Wirkungen nicht allein als Resorptionsbeschleunigung zu beschreiben ist. — Die Versuche werden fortgesetzt.

P. Schäfer (Berlin-Buch): Vascularisationsmessungen mit dem Leuchtmassenzähler.

Mit 2 Textabbildungen.

Zum Studium des quantitativen Gefäßgeschehens in Hauttransplantaten wurden autotransplantierte Ratten mit Uranylacetat-Lösung (Alpha-Teilchen) total injiziert und dann die Radioaktivität im Transplantat und in der normalen Haut bestimmt. Die betreffenden Hautteile

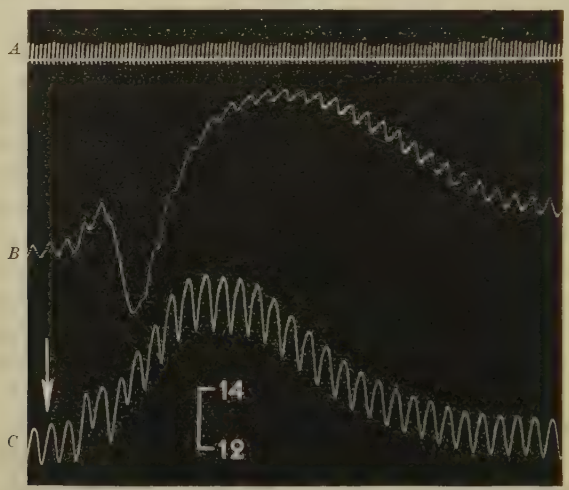


Abb. 1. *A* Zeit in Sekunden, *B* Onkogramm, *C* Carotisdruck. Bei ↓ 0,006 mg Adrenalin i. v.

wurden verkohlt, zermörsert und auf ZnS-Ag-Plättchen mit einer Beschickung von 5 mg/cm² ausgestreut. Die Plättchen wurden auf das Fenster eines Sekundär-Elektronenvervielfachers gelegt und die im Leuchtstoff durch die Alpha-Teilchen erzeugten Lichtblitze gezählt. Die Teilchenzahl wurde auf gleiches Gewicht (100 mg Kohle) bezogen. Diese Umrechnung ist erlaubt, weil die aufgestreute Kohlemenge der registrierten Teilchenzahl direkt proportional ist. Als Maß für die Vascularisation der Transplantate galt der Quotient aus der Teilchenzahl des Transplantates zu derjenigen der normalen Haut. Eine Diffusionskomponente, die die Beurteilung des Gefäßraumes erschwert, konnte für Uranylacetat ausgeschlossen werden.

Die Injizierbarkeit der Transplantate nimmt von 48 Std bis zum 6. Tage nach der Operation von 18 auf 128% im Mittel stetig zu. Die Injizierbarkeit am 60. Tage nach der Operation entspricht der Injizierbarkeit des 6. Tages. Die erhebliche Streuung der Einzelwerte kann nicht methodisch bedingt sein, wie Untersuchungen einerseits mit einer Glucose-Lösung als Injektionsmittel und andererseits zu charakteristischen Zeitpunkten nach der Transplantation ergaben.

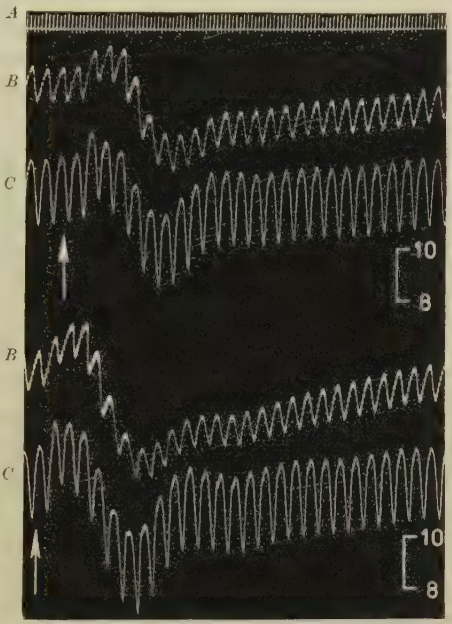


Abb. 2.
A Zeit in Sekunden, *B* Onkogramm, *C* Carotisdruck. Bei 1. ↑ 0,006 mg Adrenalin i. v. bei 2. ↑ 0,012 mg Adrenalin i. v. Zwischen 1. und 2. erhielt das Tier 1,5 mg Amsonin/kg i. v.

RAYMOND-HAMET (Paris): Über ein neues Sympathicolytikum.

SHOSITIRO KIMOTO und HIDEO INOUE haben aus einer japanischen Apocynacee, der Amsonia elliptica ROEM. u. SCHULT., ein kristallisiertes Alkaloid, das Amsonin, dem die Formel $C_{21}H_{28}O_4N_2$ zukommen dürfte, isoliert[1]. Die japanischen Chemiker haben uns einige Zentigramme dieses sehr seltenen Alkaloides, das auch in den neuesten Werken über die Chemie der Alkaloide nicht erwähnt ist, zur Verfügung gestellt. Wir haben gefunden, daß es zur Gruppe der Sympathicolytica majora et pura gehört. Der hier mitgeteilte Versuch wurde an einem Hund von 5,7 kg Körpergewicht durchgeführt. Das Tier war durch 140 mg/kg Chloralose i.v. narkotisiert und beiderseits vagotomiert und wurde künstlich beatmet. Zu Beginn verursachten 0,006 mg Adrenalin-bitartrat „Höchst" i.v. eine Erhöhung des Carotisdruckes von 126 auf 178 mm Hg, außerdem eine Verminderung des Nierenvolumens und ein Verschwinden des Nierenpulses. Nachdem das Tier in vier aufeinanderfolgenden intravenösen Injektionen die totale Menge von 1,5 mg Amsonin/kg erhalten hatte,

rief dieselbe Adrenalindosis nach einem vorübergehenden leichten Blutdruckanstieg (von 136 auf 145 mm Hg) einen Druckabfall von 22 mm auf 114 mm Hg hervor. Nach der Injektion der doppelten Adrenalindosis, 0,012 mg, fiel der Carotisdruck nach einem vorübergehenden schwachen Anstieg (von 134 auf 145) auf 102 mm Hg. Nach beiden Adrenalin-Injektionen zeigten sich den Änderungen des Carotisdruckes parallel gehende Änderungen des Nierenvolumens. Der Nierenpuls war weder aufgehoben noch vermindert.

Unter Sympathicolytica majora verstehen wir diejenigen, die am Hundeblutdruck die Adrenalin-Umkehr hervorrufen können, und unter Sympathicolytica pura diejenigen, die ohne diese Nebenwirkung sind, bei denen die Adrenalin-Umkehr mehr oder weniger fortfällt. Weil die Mutterkornalkaloide sehr ausgeprägte Nebenwirkungen haben, sollte man besser das Yohimbin, dessen Wirkung auf das sympathische Nervensystem wir 1925 entdeckt haben, als den Typus eines echten Sympathicolyticums ansehen.

Literatur.

[1] Yakugaku Zasshi, t. 62, 1942, p. 31 und p. 95—97.

D. Demonstrationen.

M. Siess und G. Seybold (Tübingen): Demonstration von Radioautographie mittels eines Imprägnierungsverfahrens.

Es werden einige Farbphotos von Radioautographie gezeigt, die von Gewebsschnitten (Schilddrüsen) stammen, welche mit Silbersalzen imprägniert worden waren. Der Vorteil besteht in schärferer Lokalisation und Erfassung von Kurzstrahlern. Die histologische Färbetechnik ist nicht eingeschränkt. Methode und Fehlermöglichkeiten sind veröffentlicht (Klin. Wschr., 30. Jg, S. 601, 1952).

A. Giotti und Fr. Nardini (Florenz): Die Wirkung einiger Digitalisglykoside auf die isolierten Vorhöfe von Meerschweinchenherzen.

In Anwendung der vom hiesigen Institut beschriebenen Technik haben wir die Wirkung der Digitalistinkturen und Digitalisglykosiden untersucht. Im allgemeinen wurde bei kleinen Dosierungen ($1 : 10^{-7}$) als Hauptwirkung eine Zunahme der Inotropie festgestellt, deren Intensität und Dauer variierte, je nach Temperatur des Bades, nach der Zeit, die seit dem Beginn des Ablaufs des Versuches verstrichen ist, und nach den Verhältnissen der Sauerstoffsättigung usw. Der positive inotrope Effekt stellt sich ein, ohne daß gewöhnlich Abweichungen in der Frequenz und im Rhythmus auftreten, und ohne Veränderungen des Elektrogrammes. Auf einen länger währenden Kontakt mit derartigen Glykosidkonzentrationen folgt eine Phase, die gekennzeichnet ist durch ein Abklingen der positiven inotropen Wirkung mit Kontraktionen von veränderlicher Amplitude, denen beachtliche Veränderungen des Formenbildes der schnellen und der langsamen elektrischen Komplexe entsprechen.

A. Giotti (Florenz): Technik der Registrierung des Mechanogrammes und des Elektrogrammes isolierter Vorhöfe von Meerschweinchenherzen.

Mit 1 Textabbildung.

Eine Versuchsanordnung, die sich als praktisch erwiesen hat für die gleichzeitige Registrierung des Mechano- und Elektrogrammes isolierter Vorhöfe von Meerschweinchenherzen, wird in der Abbildung erläutert. In dem aus plastischem Material hergestellten Gefäß (A) ist das Präparat in horizontaler Lage aufgehängt, die Außenseiten der Vorhofklappen sind nach oben gerichtet; das rechte Herzohr ist mit einer Klammer

aus Platindraht von 0,2 mm Durchmesser an dem Träger (B) befestigt, und das linke Herzohr ist durch eine andere Klammer an einem Draht befestigt, der über eine zum Träger B gehörige Rolle zum Hebel (C) führt. Eine intensive Sauerstoffsättigung wird durch einen feinverteilten Luftblasenstrom gesichert, indem Sauerstoff durch eine am Boden des Gefäßes eingelötete, poröse Sonde eingeblasen wird; dieser Boden ist

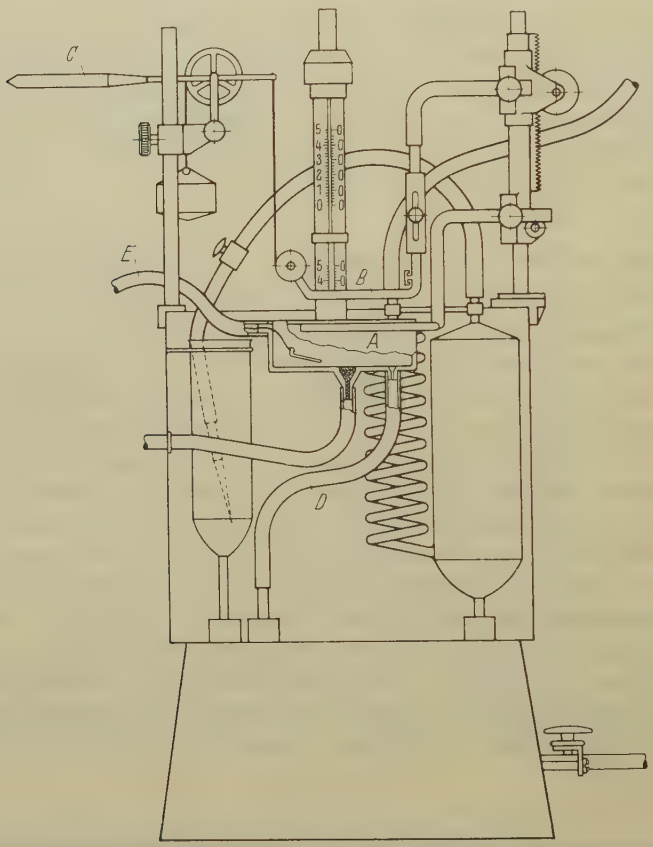


Abb. 1.

leicht geneigt, um die Röhre (D) schnell entleeren zu können. Die Röhre (E) ermöglicht es, den Flüssigkeitsspiegel konstant zu erhalten, sobald diese Flüssigkeit mittels eines Perfusionsapparates Tropfen um Tropfen in das Gefäß eingelassen wurde. Die Temperatur des Bades beträgt 30°; die Flüssigkeit hat die von J. L. Webb (Brit. J. Pharmac. **5**, 87, 1950) beschriebene Zusammensetzung. Das Elektrogramm wird mittels einer großen, auf dem Boden des Gefäßes angebrachten Platinplatte und einer Sondenelektrode aufgenommen, die aus einem Platinplättchen

von 2 mm Durchmesser besteht, das in einem Abstand von ungefähr 1 mm von der Außenseite der rechten Vorhofklappe in der Nähe des Fixierpunktes angebracht ist.

Unter diesen Bedingungen kann man, auch wenn man das Präparat häufig waschen muß, stundenlang mechanische und elektrische Aufzeichnungen der Form und der Amplitude erhalten. Der Vorteil, den die Verwendung der Herzkammer von Meerschweinchen bietet, besteht hauptsächlich in der ganz geringen Dicke der Vorhofwand, die sowohl eine wirksame Ernährung durch einfache Diffusion als auch eine leichte Umkehrbarkeit der pharmakologischen Wirkungen durch Spülung ermöglicht.

M. A. Khayyal und H. Wiemer (Alexandria/Ägypten): Eine neue Methode zum vergleichenden Studium und zur Auswertung von Antihistaminen.

Mit 3 Textabbildungen.

Es wird eine Methode beschrieben, die es gestattet, den Wirkungsablauf jedes Histamin-Antagonisten genau zu verfolgen. Sie ist nach entsprechender Abänderung außerdem geeignet, jedes beliebige passende Agonisten-Antagonistensystem zu untersuchen.

Methode. Ein Stück Meerschweinchen-Dünndarm wird in einem leeren (nicht mit Tyrode-Lösung gefüllten) Organbade, das sich in einem Wasserbade von 37° befindet, aufgehängt und kontinuierlich (1 Tropfen pro Sekunde) [Gaddum (1951)] mit körperwarmer und sauerstoffgesättigter Tyrode-Lösung bzw. Tyrode-Lösung + Histamin oder Tyrode-Lösung + Histamin + Antihistamin beträufelt. Sämtliche Lösungen laufen aus Reservebehältern, die sich 50 cm über dem Organbade befinden, über Glasspiralen im Wasserbade zu getrennten kleinen Glaskanülen, die nach Bedarf mit dem Verbindungsfaden Darm-Schreibhebel in Berührung gebracht werden. Dann wird

1. der Darm ½—1 Std lang mit Tyrode-Lösung beträufelt,

2. in Übereinstimmung mit Schild ein konstanter submaximaler Histamineffekt produziert. Dies geschieht jedoch auf folgende besondere Weise:

Der Tyrodezufluß wird 10 sec lang unterbrochen, und während der ersten 5 sec werden 5 Tropfen einer Histamin-Tyrode-Testlösung vorsichtig auf den Darm geträufelt. Die Testlösungen befinden sich eingetaucht in einem besonderen Gestell im Wasserbade und enthalten abgestufte Histaminkonzentrationen. Jedes Teströhrchen ist mit einer eigenen Tropfpipette versehen. Durchschnittlich benötigt man vor Beginn des eigentlichen Versuches etwa 10—20 Einzeltestungen mit verschieden hohen Histaminkonzentrationen bei einem Einzeltestintervall von 90 sec. Dann wird

3. der Tyrodezufluß durch eine gewöhnlich $0{,}18 \cdot 10^{-6}$ molare Histamin-Lösung in Tyrode ersetzt. Schon innerhalb der ersten Minute kontrahiert sich der Darm maximal und verbleibt in diesem Zustande über eine beträchtliche Zeitspanne (Abb. 1).

4. Die obige Tyrode-Histamin-Lösung wird nun durch die gleiche Lösung, die aber außerdem noch das zu prüfende Antihistamin enthält, ersetzt. Das Ergebnis ist eine negative Kurve, die für jedes Antihistamin charakteristisch ist. Ihr Verlauf hängt natürlich auch von der Konzentration und Applikationsdauer ab.

5. Rückschaltung auf die als Ausgangsbasis gewählte Histamin-Tyrode-Lösung ergibt eine Kurve, die die Erholungsphase von der Wirkung des Antihistamins darstellt, und die ebenfalls für die verschiedenen Histamin-Antagonisten charakteristisch ist.

Abb. 1. Meerschweinchendarm. Wirkung einer $0{,}18 \times \times 10^{-6}$ mol. Histaminlösung in Tyrode, appliziert für 22 min. *T* Tyrodelösung, *TH* Tyrodelösung, welche 20 γ Histaminbase pro Liter enthält.

Ergebnisse. Die Wirkungsperiode eines Antihistamins, wie auch die Erholungsperiode nach der Einwirkung eines bestimmten Antihistamins, sind gewöhnlich durch zwei besondere Phasen ausgezeichnet, nämlich:

Abb. 2. Meerschweinchendarm. Die einzelnen Phasen der Reaktionsperiode und der Verdrängungsperiode von Neoantergan (2 γ pro Liter) in Histamin-Tyrodelösung (20 γ pro Liter). Zeitdauer der Applikation: 10 min 20 sec. *TH* Tyrodelösung, welche 20 γ Histaminbase pro Liter enthält. *a* primäre Phase der Reaktionsperiode, *b* Sekundäre Phase der Reaktionsperiode, *c* Primäre Phase der Verdrängungsperiode, *d* Sekundäre Phase der Verdrängungsperiode.

1. Eine kurze veränderliche, manchmal kaum ausgeprägte primäre Phase, deren Richtung und Ausdehnung nicht nur bei verschiedenen

Antihistaminen, sondern auch beim gleichen Antihistamin variiert, wenn es wiederholt am gleichen Darmstück angewendet wird.

2. Eine mehr oder weniger gleichmäßig fortlaufende Phase (Abb. 2).

Folgende Substanzen wurden nach 2, 3, 5 und 15 min langer Applikationsdauer geprüft: a) Mepyramin;* b) Promethazin;** c) Benadryl; d) Antistin; e) Pyribenzamin.

Beim Vergleich äquimolarer Konzentrationen stellte sich Mepyramin* als das am kräftigsten wirksame Antihistamin heraus, während Promethazin** allen anderen bezüglich der Wirkungsdauer überlegen war.

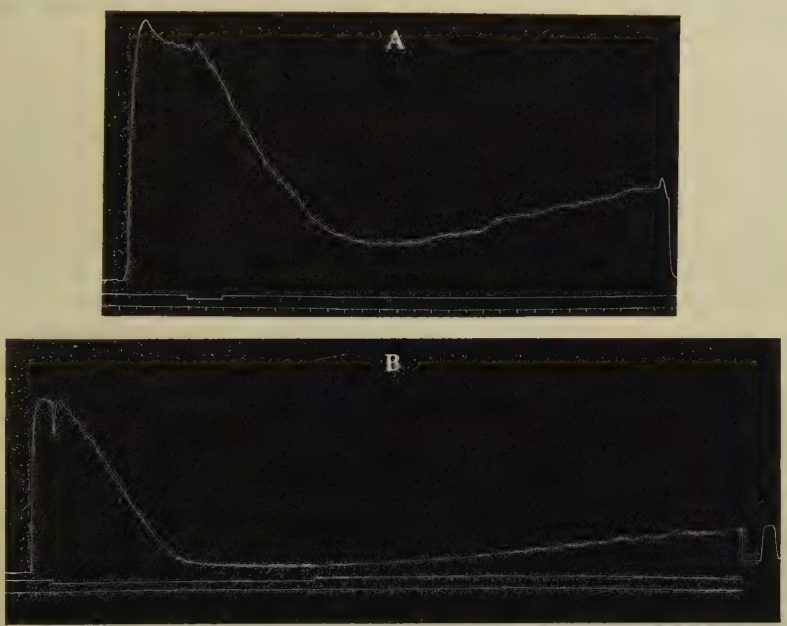


Abb. 3. Meerschweinchendarm. Antagonistische Wirkung von Phenergan. *A* Reaktion des „histaminisierten" Darms auf Phenergan (4 γ pro Liter), appliziert für 2 min. *B* Reaktion desselben Darmpräparates 40 min später auf die gleiche Phenerganlösung, appliziert für 15 min.

Die molaren Konzentrationen der oben angeführten Antihistamine, die imstande waren, nach 3 min langer Anwendung die volle Wirkung von $0{,}18 \cdot 10^{-6}$ Mol Histamin pro Liter Tyrode-Lösung aufzuheben, gehen aus der folgenden Aufstellung hervor:

Mepyramin*	$0{,}005—0{,}01 \cdot 10^{-6}$
Pyribenzamin	$0{,}015—0{,}027 \cdot 10^{-6}$
Promethazin**	$0{,}018—0{,}036 \cdot 10^{-6}$
Benadryl	$0{,}09 —0{,}14 \cdot 10^{-6}$
Antistin	$0{,}27 —0{,}36 \cdot 10^{-6}$

* Mepyramin = Neoantergan.
** Promethazin = Phenergan.

Literatur.

Alberty, J.: Klin. Wschr. **45/46**, 786 (1950). — Gaddum: Pers. Mitt. 1951. — Reuse, J. J.: Brit. J. Pharmacol. Chem. **3**, 174 (1948). — Schild, H. O. Brit. J. Pharmacol. Chem. **2**, 189 (1947).

Schlußwort. Wiemer: Es war nicht unser Bestreben, das molare Wirkungsverhältnis von Histamin zu Antihistamin in Prozent auszudrücken, sondern ich wollte Ihnen eine einfache und übersichtliche Methode zum Studium und Vergleich der verschiedenen Substanzen zeigen.

Die Methode von Schild unterscheidet sich von der unsrigen dadurch, daß hier zunächst der Antagonist zugesetzt wird und dann für ein kurzes Zeitintervall Histamin appliziert wird. Der so erzielte Effekt entspräche also gerade der primären, variablen Phase der Reaktionskurve, die ich eben zeigen durfte.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 159—168 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Beeinflussung reflektorisch toxischer Digitaliswirkungen (Bradykardie und Erbrechen) durch Novocain und Ganglienblocker.

Von
W. Busse und L. Lendle.

(Eingegangen am 15. Oktober 1952.)

Die toxischen Nebenwirkungen der Digitalistherapie, die sich auch an gesunden Tieren in akuten und chronischen Vergiftungsversuchen nachweisen lassen, werden heute nicht mehr als direkte Wirkungen auf das Brech- und Vaguszentrum oder als peripher ausgelöste Reizreaktionen im Herzen oder an der glatten Muskulatur des Magen-Darmkanals aufgefaßt. Man nimmt nach vielseitigen experimentellen Untersuchungen eine reflektorische Erregung der genannten Zentren als Ursache an, wobei nur der Ort der Reflexauslösung noch umstritten ist.

Die wohl zuerst von Hatcher u. Weiss[13] ausgesprochene Auslösung des Digitaliserbrechens vom Herzen über afferente Reizwege in Vagus und Sympathicus ist auch von Jarisch u. Richter angenommen worden. Dresbach u. Weddell konnten freilich Erbrechen nach Strophanthidin nicht verhüten durch Vagotomie, Entfernung des Ganglions Stellatum, des thorakalen Sympathicus und nach Rückenmarkdurchschneidung am VII. Cerv. Dresbach[4] lehnt auch nach späteren Untersuchungen den kardialen Ursprung ab. Hanzlik u. Wood verhüteten dagegen an Tauben das Digitaliserbrechen durch Vagotomie, allerdings nicht, wenn nur der Herzvagus durchtrennt wurde. Sie nehmen also extrakardiale Reizauslösungen über den Vagus aufsteigend an. Haney u. Lindgren haben in umfangreichen experimentellen Analysen an dressierten Hunden unter EKG-Kontrolle ohne Narkose die Brechwirksamkeit und andere Reaktionen geprüft, nachdem vorausgehend verschiedene operative Ausschaltungen erfolgt waren. Es gelang nicht, den spezifischen Verlauf der afferenten Bahnen auszuschalten, so daß diese Autoren sogar wieder der Auffassung zuneigen, daß vielleicht doch direkte zentrale Erregungen mitspielen möchten. Ähnlich sind auch die neuesten Erfahrungen von M. Dresbach[4] mit operativer Ausschaltung aller visceralen afferenten Bahnen und (nach Erholung) auch doppelseitiger Vagotomie. In über 1000 Testversuchen mit Strophanthidin (0,06 mg/kg i.v. oder 0,20 mg/kg intramuskulär) an 120 Tieren war das Erbrechen nicht zu verhüten. Dagegen beschrieb Kushizaki an Hunden nach i.v. Gaben von g-Strophanthin das Ausbleiben der Brechreaktion, wenn bestimmte Gruppen von Herznerven operativ ausgeschaltet wurden. Reflexe von den Visceralorganen konnten als mögliche Ursache ausgeschlossen werden.

Von pharmakologischen Antagonisten zum Digitaliserbrechen ist an Hunden und Katzen nur das Nicotin wirksam gefunden worden (Hatcher u. Mitarb.[14]). An Tauben soll nach Hanzlik u. Wood auch Atropin und Ergotoxin das Digitaliserbrechen hemmen. Hatcher u. French nehmen an, daß Nicotin den Brecheffekt

über Angriffe in peripher afferenten Herzbahnen verhüten kann. Dresbach[4] diskutiert dagegen, daß Nicotin auch über eine zentrale Blockierung wirksam werden könne.

Für die toxische Digitalisbradykardie ist seit den Versuchen von J. F. u. C. Heymans am künstlich durchbluteten Hundekopf mit erhaltener Vagusverbindung zum Rumpf wohl sichergestellt, daß die Digitalisglykoside auch in höheren Dosierungen keine direkte Erregung des Vaguszentrums auslösen, wie z. B. Lobelin, Nicotin, Veratrin u. a. Lendle hat anschließend an die Vermutung von Jarisch, daß auch Digitalisverbindungen „Detektorstoffe" des Bezold-Jarisch-Reflexes sein könnten, die Möglichkeit diskutiert, daß die Digitalisbradykardie als kardiokardialer Hemmreflex zustandekommen könnte. In diesem Sinne lassen sich auch die Befunde von Lendle u. Wienke deuten, daß z. B. Novocain, welches den genannten Reflex nach Veratrin aufhebt (Eichholtz u. Mitarb.), auch die toxische Digitalisbradykardie beseitigt. Zipf u. Ehrlicher haben in systematischen Untersuchungen an Kaninchen und Katzen mit operativer Ausschaltung des Carotissinus und der Receptoren am Aortenbogen den reflektorischen Charakter der Digitalisbradykardie mit vorwiegender Auslösung in das Gebiet des Aortenbogens lokalisiert. Da aber an Katzen unter diesen Bedingungen noch die kardiokardialen Reflexbahnen erhalten bleiben, vermochten sie die Deutung als Hemmung über kardiokardiale Zweige des Bezold-Jarisch-Reflexes auszuschließen.

T. Fukuda nimmt dagegen für die Digitalisbradykardie doch einen kardiokardialen Reflex an, den man auch mit anderen „kardiotonischen" Stoffen, wie Adrenalin, Ephedrin, Ca und Ba, Veratrin usw., am Hund auslösen könne. Diese Bradykardie verschwindet, wenn die zentripetalen Herznerven ausgeschaltet werden, selbst wenn Carotissinus und Aortenbogen-Innervation intakt bleiben. Kido konnte oscillographisch in zentripetalen Herznerven eine vermehrte Impulszahl und höhere Potentialen unter diesen Bedingungen nachweisen. Ausgangspunkt dieser Reflexe sollen etwaige Muskelspindeln im Herzmuskel sein, die bei veränderten Dehnungs- und Kontraktionsvorgängen verstärkte Reaktionen auslösen.

Zwischen den Veratrinalkaloiden als Steroidverbindungen und den Digitalisglykosiden besteht eine strukturmäßige Verwandtschaft (Krayer u. Mitarb.), wodurch es nahe gelegt wird, bei den Digitalisstoffen an ähnliche Detektoreigenschaften über Receptoren im Herzen, in anderen Gefäßgebieten oder Organen zu denken, wie es für die Veratrine bekannt ist. Wir bemühten uns, ausgehend von dieser Annahme, antagonistische Wirkungsmöglichkeiten von Novocain, Nicotin und Ganglienblockern gegenüber toxischen Digitaliswirkungen, der Bradykardie und dem Erbrechen, nachzuweisen.

I. Methodik.

Die Versuche wurden an Hunden ausgeführt, die als „Vagustiere" vielleicht auch eine besondere Neigung zur Digitalisbradykardie haben mögen. In früheren Versuchen (Busse u. Lendle) haben wir an Hunden schon die Resorptionsbedingungen verschiedener Digitalisglykoside und Strophanthine bei peroraler Darreichung am Auftreten einer toxischen Bradykardie und von Erbrechen geprüft. In einem Teil dieser Versuche wurden auch die genannten antagonistischen Pharmaka geprüft. Die Mehrzahl der Versuche wurde an Hunden ausgeführt, welche subcutan oder intramuskulär Strophanthidin injiziert bekamen. Nach den Erfahrungen von Dresbach u. Schäfer ist nämlich für dieses Genin die Latenzzeit bis zur Brechreaktion relativ gering, und die Dauer der toxischen Nachwirkung ist geringer, so daß die Versuchstiere auch eher wiederholt verwendet werden

konnten. Bei allen Versuchstieren wurde die Pulsfrequenz durch Palpation ermittelt.

Nachdem sich unter der Digitalisgabe eine Bradykardie oder Brechwirkung eingestellt hatte, wurden die Antagonisten i.m. injiziert und ihre Wirksamkeit an Hand des Fortbestehens oder Verschwindens der toxischen Erscheinungen beurteilt. Außer dem obenerwähnten Nicotin und Novocain (p-Aminobenzoyldiäthylaminoäthanol) benutzten wir Papaverin, Pendiomid (N,N,N′, N′-3-pentamethyl-N, N′-diäthyl-3-aza-pentylen-(1,5)-diammoniumdibromid) und Tetraäthylammoniumbromid (TEA)*.

Über weitere Versuchsbedingungen und methodische Erfahrungen haben Busse u. Lendle berichtet.

II. Vorversuche mit Strophanthidin.

Nach 45 Versuchen kann die subcutan wirksame Dosis am Hund mit 0,20—0,30 mg/kg festgelegt werden. Ab Dosis 0,2 mg stellte sich meist schon Erbrechen ein, aber noch keine Bradykardie. Ab 0,24 mg begann auch in einigen Fällen eine Bradykardie aufzutreten. Bei einzelnen Versuchstieren fiel auch auf, daß die Brechreaktion vor der Bradykardie eintrat. Ein Teil dieser Versuche (für 0,30 mg/kg) sei in Tab. 1 kurz zusammengefaßt. Darin ist der Grad der Bradykardie ansteigend durch Zeichen angegeben:

± wenn die Pulsfrequenz unter 80 sank,
(+) wenn die Pulsfrequenz unter 70 sank,
+ wenn die Pulsfrequenz unter 60 sank.

Die normalen Pulswerte sind in der früheren Arbeit von Busse u. Lendle mit 100—120 Schl./min angegeben.

Tabelle 1. *Strophanthidin subcutan am Hund* (0,30 mg/kg).

Bradykardie		Erbrechen	
Grad	Beginn ab min	Häufigkeit	Zeit in min
±	72	—	—
±	245	2	150—168
+	155	8	21—174
+	210	6	102—260
—	—	1	70
+	45	10	26—163
+	35	5	18—36
(+)	90	4	75—130
(+)	225	5	140—255
±	245	4	127—155
(+)	130 und 260	7	80—135
+	60	3	51—67
(+)	150	2	119—210
+	90	5	60—74
(+)	115	6	92—114

* Den Herstellerfirmen danken wir an dieser Stelle für die Überlassung der erforderlichen Versuchsmengen.

Für die zeitlichen Beendigungen der Wirkung kann gesagt werden, daß Erbrechen selten vor 60 min eintrat, während eine Bradykardie häufig erst in der 2. oder 3. Std erkennbar wurde. Die Wirkungen hielten 1—3 Std lang an. In Tab. 1 ist für die Brechreaktion angegeben, wie oft sie in dem genannten Zeitraum erfolgte. Dabei ist die Zahl der Brechreaktionen in den letzten 9 aufgeführten Versuchen dadurch begrenzt, daß in diesen Versuchen schon die Wirkung der Gegenmittel geprüft wurde.

III. Antagonistische Wirkungen.

Die zu prüfenden Stoffe wurden auf dem Höhepunkt der Vergiftung subcutan injiziert. Leider war in diesem Stadium nicht in allen Fällen eine typische Bradykardie erreicht, so daß die pulsbeschleunigende Wirk-

Tabelle 2. *Antagonistische Wirkungen nach Strophanthidin.*

Stroph. mg/kg	Puls-frequenz	Erbrechen Anzahl	Antagonist	mg/kg	Puls-frequenz	Erbrechen Anzahl	
0,24	84	3	Novocain	50	bleibt	6	
0,20	104	3		30	56	2	
				20	148	1	
0,24	62	2		50	90—100	3	
0,27	68—80	4		50	120—60	—	
0,30	60	3		30	100—132	2	
0,30	60	3		30	88	1	
0,30	52	4		30	168—72	—	
0,30	52	4		50	112	6	
0,27	50	—	Nicotin	0,30	68	1	
0,27	88	6		0,30	140	7	
0,27	82	—		0,30	94	1	
0,27	112	4		0,5	160	6	
0,30	64	2		0,30	56	—	
0,30	40	3		0,30	200	—	
0,30	68	7		0,50	136	—	
0,30	132	4		0,50	92	1	
(0,30)	(112)	10		0,30	136	—	(vorher Novocain)
0,24	92	4	Pendiomid	20	100	1	
0,24	120	4		5	120	4	
				5	140	—	
0,24	50	1		10	108	—	
0,27	72	6		20	64—84	1	
0,27	120	6		10	126	8	
0,27	112	3		10	150	1	
0,27	90	3		20	80—100	2	
0,30	112	5		10	52—100	5	
0,30	60	6		20	112	—	
(0,27)	(160)	10		20	76—132	1	vorher Nicotin
(0,30)	(72)	8		10	132	—	
(0,30)	(56)	2		10	84—118	—	

samkeit in solchen Fällen nicht beurteilt werden kann. Tab. 2 bringt eine Zusammenstellung der Versuche mit vorausgegangener Strophanthidininjektion und Tab. 3 bringt Versuchsergebnisse nach vorausgegangener peroraler Verabreichung von Digitoxin oder Strophanthinen (vgl. Busse u. Lendle[2]).

In Tab. 3 fällt zunächst auf, daß nach Digitalispräparaten per os die Bradykardie wohl stärker war bei geringerer Brechreaktion, während in der gleichen Zusammenstellung die Strophanthinpräparate per os (in sehr hoher

Tabelle 3. *Antagonistische Wirkungen nach Digitalisglykosiden per os.*

Digit. Glykoside	mg/kg	Puls-frequenz	Erbrechen Anzahl	Antagonismus Stoff	mg/kg	Puls-frequenz	Erbrechen Anzahl
Verodigen	0,6	70	9	Novocain	10	56—64	6
					20	76	2
Lanadigin	0,42	60	—		30	76	4
	0,60	60	—		20	64—116	—
Digitoxin	0,07	170	—		30	170	—
	0,07	44	—		30	92	1
	0,07	68	—		30	152	3
Digitoxin	0,60	50	6		20	84	4
Digilanid	2,0	56	—	Nicotin	0,3	80—116	7
Lanadigin	0,5	45	—		0,2	172	+ erst viel später
Digitoxin	0,5	52	4		0,3	104	3
Strophoral	3,0	148	9	Pendiomid	100*	120	—
g-Strophanthin	2,0	58	5		5	80—108	3
					+ 5	152	—
k-Strophanthin	4,0	60	—		10	100—150	—
Lanadigin	0,6	72	4		2	112	1
Digitoxin	0,7	68	6		5	120—158	—
g-Strophanthin	1,0	130	8	Tetraäthylamm.	20	bleibt	—
	1,5	96—104	11		20	96—126	8
	2,5	80	8		20	72—80	—

* Unbeabsichtigte Überdosierung löste in 20 min schlafartigen Zustand mit starker Abkühlung aus.

Dosierung) eher eine starke Brechreaktion auslösten. Es mag sein, daß hier auch die klinisch oft angegebene größere Neigung der Digitalisglykoside gegenüber Strophanthin zur Pulsverlangsamung zum Ausdruck kommt. In der früheren Arbeit über die peroralen Resorptionsbedingungen der verschiedenen Glykoside war dieser Unterschied aber nicht so deutlich erschienen. Vielleicht liegt dies aber daran, daß in dieser Tab. 3 nur die Fälle von Digitalisvergiftung aufgenommen wurden, die wegen einer deutlichen Bradykardie zur Prüfung des Antagonismus ausgewählt wurden.

Die mit den Ganglienblockern und verwandten Stoffen erhobenen Befunde mögen kurz festgehalten werden in der Reihenfolge für die einzelnen Stoffe

1. Novocain war erst in hohen Dosen (20—30—50 mg/kg) wirksam. Es erhöhte die Pulsfrequenz meist deutlich, hemmte aber die Brechreaktionen nicht. In Tab. 3 fällt sogar auf, daß die Brechreaktionen eher verstärkt wurden oder sogar erst auftreten. Das mag sich erklären aus der Tatsache, daß Novocain selbst in diesen hohen Dosen am Hund Erbrechen auslösen kann (vgl. Busse u. Lendle[3]). In einigen Fällen zeigten die Versuchstiere übrigens auch nach diesen Novocaingaben eine eigenartige tetanische Kopfhaltung als Zeichen einer zentralnervösen Nebenwirkung.

2. Nicotin wirkte in Dosen von 0,3—0,5 mg/kg meist pulsfrequenzsteigernd, während es an nicht digitalisbehandelten Hunden und Meerschweinchen in gleicher Dosierung eher frequenzsenkend wirksam ist. Das Erbrechen wurde keineswegs so deutlich gehemmt, wie wir es nach den Literaturangaben erwartet hatten. Höhere Nicotindosen prüften wir nicht, weil sie toxisch sind und selbst eine zentrale Brechreaktion bewirken können (Busse). Nur bei einigen schweren Strophanthidinvergiftungen (Tab. 2), wo auch die starke Bradykardie aufgehoben wurde, sahen wir nach Nicotin eine deutliche Hemmung der Brechreaktion.

3. Pendiomid wirkte mit 10—20 mg/kg meist frequenzsteigernd, besonders deutlich, wenn eine starke toxische Bradykardie vorlag (Tab. 2). Bei Digitalisbradykardie (Tab. 3) genügten sogar schon 2—5 mg/kg zur Frequenzerhöhung. Das Erbrechen wurde aber nicht mit Sicherheit gehemmt, aber doch schon mehrfach auch mit 5—10 mg/kg abgeschwächt (Tab. 3).

4. Tetraäthylammoniumbromid (TEA) zeigte in 2 von 3 Fällen (Tab. 3) bei oralen Strophanthingaben eine Hemmung der Brechreaktion. In den gleichen Fällen war dagegen, weil keine wesentliche toxische Bradykardie vorlag, auch keine Frequenzsteigerung nachweisbar. In Tab. 4 sind noch einige nachträgliche Versuche mit diesem Stoff bei subcutaner Digitoxinvergiftung angeschlossen. (In diesen Versuchen war verglichen mit der früheren Erfahrung die subcutane Digitoxinwirksamkeit mit 0,15 mg/kg als Grenzdosis relativ geringer, gegenüber 0,06 in früheren Versuchen.) Auch hier vermochte der Ganglienblocker wohl in 3 von

Tabelle 4. *Tetraäthylammoniumbromid-Antagonismus zu Digitoxin.*

Digitoxin mg/kg subc.	Pulsfrequenz	Erbrechen Anzahl	TEA mg/kg	Pulsfrequenz	Erbrechen
0,15	80—90	4	10	bleibt	—
0,15	90	4	20	152—136	—
0,20	70—85	3	10	64	1
0,15	64	6	20	36	2
		Novocain	20	56—68	—
		Pendiomid	10	92—104	—

4 Fällen das Erbrechen zu hemmen, aber nicht die mäßige Bradykardie zu beseitigen (nur 1 Fall). In 2 Fällen wurde sogar die Pulsfrequenz noch deutlich herabgesetzt. In den letzten Fällen der Tabelle konnte dann durch Novocain und noch deutlicher durch Pendiomid die Frequenz erhöht werden.

5. Papaverin wurde in der Dosierung von 10 mg/kg i. p. appliziert. Es zeigte sich hierbei, daß weder das Erbrechen noch die Bradykardie nach Digitoxin subcutan und g-Strophanthin per os eine wesentliche Beeinflussung erfuhren (siehe Tab. 5).

Tabelle 5. *Papaverin-Antagonismus zu Digitoxin und g-Strophanthin.*

Digitoxin mg/kg subc.	Pulsfrequenz	Erbrechen Anzahl	Papaverin mg/kg i. p.	Pulsfrequenz	Erbrechen
0,15	96	10	10,0	88—108—68	6
0,2	124—100	9	10,0	140—150	4
0,2	84—56	7	10,0	76—72	3
0,2	96—80	5	10,0	76—80	4
0,2	108—70	7	10,0	72—60	0
g-Strophanthin mg/kg per os					
2,5	160—180	11	10,0	188—210	8

IV. Erörterung der Befunde.

Wir stellen unsere Ergebnisse in einer schematischen Schlußtabelle zusammen, in welcher wir den Grad der antagonistischen Wirksamkeit, ansteigend durch —, ±, (+), + kennzeichnen.

Antagonist	Hemmung der toxischen Digitaliswirkung	
	Erbrechen	Bradykardie
Novocain	—	+
Nicotin	±	+
Pendiomid	±	+
TEA	(+)	—
Papaverin	—	—

Praktisch gelang es uns, mit TEA eine Abschwächung der Brechreaktion zu erzielen. Die anderen Stoffe wirkten nur in hohen Dosen unzureichend. Aus der Tabelle ergibt sich ein verschiedenartiges Verhalten der Einzelstoffe, denen außer Papaverin, das sich als unwirksam gegen beide Kriterien erwies, *eine* Wirkungsweise (neben anderen Wirkungsmöglichkeiten) wohl gemeinsam zukommt, nämlich ihre „ganglienblokkierende" Eigenschaft. Auch bei ihnen liegt kein praalleles Verhalten gegenüber Bradykardie und Erbrechen nach Digitalisglykosiden vor. Besonders deutlich zeigt sich das beim Novocain. Daraus kann man wohl

mit Gewißheit ableiten, daß die beiden reflektorischen Digitalisnebenwirkungen nicht von gleichen peripheren Receptoren, etwa im Herz, ausgelöst werden, welche durch Novocain wie gegenüber dem Detektorstoff Veratrin ausgeschaltet wurden.

Am Beispiel des Novocains kann man sich die vielfältigen Einwirkungsmöglichkeiten zur Erklärung einer Hemmung der Digitalisbradykardie verdeutlichen. Man wird also bei der vergleichenden Analyse der Wirkungsweise der geprüften Stoffe sehr kritisch sein müssen, aber man kann gewisse Erwägungen anstellen, um weitere experimentelle Richtungen zu verfolgen.

a) Novocain könnte die peripheren Receptoren für die Detektorwirkung lähmen.

b) Novocain könnte am Zentralnervensystem (Vagus oder Vasomotorenzentrum) erregend oder lähmend wirken. Da allerdings Novocain in hohen Dosen allein schon die Herzfrequenz senkt, würde sein Antagonismus zu einer reflektorischen Digitalisbradykardie kaum über diesen zentralen Angriffspunkt zu erklären sein.

c) Novocain könnte die peripheren Erfolgsorgane der vegetativen Innervation ausschalten. Dies ist auch in hohen Konzentrationen gelegentlich am isolierten Organ gegenüber Acetylcholin und Adrenalin nachgewiesen worden. Der Einfluß auf den sympathischen Anteil könnte außer Betracht bleiben, weil er jede reflektorische Bradykardie über den Vagus nur verstärken statt aufheben würde. Der Einfluß auf den parasympathischen Anteil des Erfolgsorgans ist auch unwahrscheinlich, weil man dann ohne Digitalis eine Frequenzerhöhung nach Novocain sehen müßte und weil tatsächlich unter den genannten Dosierungsbedingungen die Acetylcholinempfindlichkeit nicht wesentlich durch Novocain beeinflußbar ist.

d) Der wichtigste Anteil der Novocainwirkung dürfte neben der Lähmung der Receptoren die Ausschaltung der Ganglien im parasympathischen System sein. Diese Tatsache haben neuerdings neben anderen Henne u. Erdmann bei elektrischer Vagusreizung unter bestimmten Bedingungen eindeutig nachweisen können. Mit Dosen von Novocain ab 20 mg/kg intravenös kann man die Herabsetzung der elektrischen Vaguserregbarkeit am Herzen feststellen. Diese Dosierung liegt annähernd im gleichen Bereich wie die zur Aufhebung der peripheren Receptoreneffekte durch Veratrin (Eichholtz u. Mitarb.), so daß man für das Novocain zur Erklärung der Aufhebung der Digitalisbradykardie wohl beide Faktoren berücksichtigen muß.

Für das Pendiomid ist die gleiche ganglienblockierende Eigenschaft ohne Lähmung peripherer Receptoren anzunehmen. Das TEA, welches hier eine auffallend geringe Hemmung der Bradykardie zeigte, ist aber auch als ganglienblockierender Stoff bekannt. Erdmann u. Mercker haben bei ihren Vagusreizversuchen entsprechende Hemmungen mit 10 mg/kg beobachtet. Es ist daher nicht erklärlich, weshalb dieser Stoff hier unwirksam blieb.

Für das Nicotin schließlich ist schon seit Langley bekannt, daß es spezifische Ganglien des vegetativen Nervensystems zu lähmen vermag. Auch für die intrakardialen Herzvagusganglien ist dieser Hemmeffekt als Ursache der Vagusausschaltung nach Nicotin von Schmiedeberg

und späteren Autoren (vgl. HEUBNER) beschrieben worden. Daß Nicotin daneben auch eine zentralnervös erregende und lähmende Wirkung besitzt, Synapsen an der Muskulatur lähmt usw., dürfte hier zur Erklärung seiner Hemmung gegen Digitalisbradykardie nicht wesentlich sein.

Die von uns gefundenen Hemmwirkungen gegenüber dem Digitaliserbrechen waren auch wenig eindrucksvoll. Die Tatsache, daß Novocain trotz seiner lähmenden Wirkung auf periphere Receptoren praktisch unwirksam bleibt, hat uns enttäuscht. Wenn das Digitaliserbrechen auch reflektorischen Charakter hätte, so könnte man annehmen, daß hier ganglienblockierende Stoffe hemmend die efferenten Impulse zu drosseln vermögen. Nur das TEA zeigte gewisse Erfolge. Die Analyse der antagonistischen Beeinflussung von Brechreaktionen dürfte noch schwieriger sein als die der reflektorischen Digitalisbradykardie. Die efferenten Impulse für die Brechreaktion verlaufen ja nicht allein über vegetative Nervenbahnen, sondern auch zur Skeletmuskulatur, so daß große Teile der Brechreaktion durch Ganglienblocker nicht beeinträchtigt zu werden brauchen. Wir haben uns mit der Pharmakologie brechwirksamer Stoffe in diesem Zusammenhang in einer weiteren Arbeit befaßt, in der auch auf die hier erhobenen Befunde mit Digitalis noch einmal zurückgegriffen werden soll.

Zusammenfassung.

Es wurde versucht, toxische Digitaliswirkungen am Hund (Bradykardie und Erbrechen) durch Behandlung mit Novocain und ganglienblockenden Stoffen zu beseitigen, um daraus Schlüsse auf eine reflektorische Auslösung und Leitung über bestimmte vegetative Bahnen zu ziehen.

Novocain, Nicotin und Pendiomid, dagegen nicht das Tetraäthylammoniumbromid (TEA), heben die Digitalisbradykardie auf. Gegenüber Erbrechen war das Novocain ohne Wirkung, Nicotin und Pendiomid waren wenig wirksam und TEA zeigte nur eine mäßige antagonistische Wirkung. Papaverin als glattmuskellähmender Stoff hemmte weder das Erbrechen noch die Bradykardie mit Sicherheit.

Die beiden toxischen Digitaliswirkungen dürften, da derselbe antagonistische Stoff jeweils ein verschiedenes Verhalten ihnen gegenüber zeigen konnte, nicht von gleichen Receptoren ausgelöst werden. Bei der Aufhebung der Digitalisbradykardie dürften das Novocain, Nicotin und Pendiomid eine Blockierung der intrakardialen Vagusganglien eine Rolle spielen. Bei TEA würde diese ganglienblockierende Wirkung für sie aber keine Bedeutung haben.

Die Blockierung der Ganglien kann die Brechwirkung der verschiedenen Stoffe nicht verhüten. Die hemmende TEA-Wirkung gegenüber dem Erbrechen muß also über einen anderen Mechanismus zustande kommen.

Literatur.

[1] Busse, W.: Z. exper. Med. **118**, 573 (1952). — [2] Busse, W., u. L. Lendle: Klin. Wschr. **30**, 264 (1952). — [3] Busse, W., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 169 (1953). — [4] Dresbach, M.: Amer. J. Physiol. **126**, P 480 (1939). — [4a] Dresbach, M.: J. of Pharmacol. **91**, 307 (1947). — [5] Dresbach and Schäfer: J. of Pharmacol. **59**, 15 (1937). — [6] Dresbach and Weddell: J. of Pharmacol. **27**, 9 (1926); **34**, 43 (1928). — J. Labor. a. Clin. Med. **14**, 625 (1929). — [7] Eichholtz u. Mitarb.: Klin. Wschr. **1949**, 71. — [8] Erdmann, W. D., u. H. Mercker: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 563 (1952) — [9] Fukuda, T., u. Mitarb.: Autoreferate Juli 1950 (vom Verf. übersandt). — [10] Haney, H. F., and A. L. Lindgren: J. of Pharmacol. **76**, 363 (1942). — [11] Hanzlik and Wood: J. of Pharmacol. **37**, 67 (1929). — [12] Hatcher, R., and B. S. French: J. of Pharmacol. **46**, 97 (1932). — [13] Hatcher and Weiss: J. of Pharmacol. **22**, 139 (1924). — [14] Hatcher u. Mitarb.: J. of Pharmacol. **33**, 295 (1928); **46**, 97 (1932). — J. Amer. Med. Assoc. **89**, 429 (1927). — [14a] Henne u. Erdmann: Klin. Wschr. **1953**, 174. — [15] Heubner, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 33 (1947). — [16] Heymans, J. F. and C.: J. of Pharmacol. **29**, 203 (1926). — [17] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **1939**, 185. — [18] Kido, R.: Fol. jap. pharmacol. **45**, 139 (1949); zit. nach F. Fukuda. — [19] Krayer, O., u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 405 (1950). — [20] Krayer, O., and G. H. Acheson: Physic. Rev. **26**, 383 (1946). — [21] Kushizaki: Fol. jap. pharmacol. **42**, 148 (1947); zit. Merck-Jahresber. **69**, 18. — [22] Langley, J. N., and Dickinson: Proc. Roy. Soc. Lond. **46**, 423 (1889). — [23] Lendle, L.: N. med. Welt (Stuttgart) **1950**, 1. — Z. Kreislaufforschg **39**, 193 (1950). — [24] Lendle, L., u. H. Wienke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 373 (1951). — [25] Schmiedeberg, O.: Ber. Kgl. sächs. Wiss. **22**, 130 (1870). — [26] Zipf, H. Fr., u. H. Ehrlicher: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 529 (1951).

Prof. Dr. L. Lendle,
Pharmakologisches Institut der Universität, Göttingen, Geiststraße 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 169—176 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Beeinflussung pharmakologischer Brechreaktionen durch Ganglienblocker, Spasmolytica, Novocain u. a.

Von
W. Busse und L. Lendle.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. Oktober 1952.)

Das toxische Digitaliserbrechen ist vielfach experimentell auf seine zentrale oder peripher-reflektorische Auslösung analysiert worden. Insbesondere mit operativen Ausschaltungsmethoden hat man den Weg der afferenten Reflexbahnen zu klären versucht. Auch durch Verwendung verschiedener Pharmaka suchte man das Digitaliserbrechen zu verhüten und daraus Schlüsse auf den Angriffspunkt zu ziehen. Nach Hatcher und Mitarbeiter wirkte vorwiegend Nicotin antagonistisch, wobei es offen blieb, ob der periphere oder zentrale Wirkungsmechanismus des Nicotins diese spezifische Reaktion erklären soll.

Das Nicotin selbst verursacht in hohen Dosierungen Brechdurchfälle. Gewöhnungserscheinungen lassen bekanntlich diese Nebenwirkungen beim Rauchen zurücktreten. Diese Brechwirksamkeit des Nicotins dürfte einen zentralen Angriffspunkt haben (Busse). Eine Analyse der Nicotinbrechwirksamkeit auf Grund ihrer Beeinflußbarkeit durch Atropin hat beim Pilocarpinerbrechen in Parallele zum gleichartigen Verhalten Eggleston gegeben. Er bezeichnete diese beiden Stoffe als zentrale Emetika, unterscheidet sie aber in ihrem Wirkungsangriffspunkt doch von anderen auch zentral angreifenden Mitteln (Apomorphin, Morphin, Akonitin) oder peripher reflektorisch wirksamen Mitteln (Emetin, Ouabain usw.), weil alle nicht in ihrer Brechwirksamkeit durch Atropin gehemmt werden. Die atropinantagonistische Wirkung erfolgt schon mit kleinen Dosen (ab 0,0035 mg/kg), während sonst zentrale Atropinwirkungen, z. B. bei Parkinsonismus oder bei der Anwendung als Antidot gegen die Krampfwirksamkeit von E 605 u. a. Insektizide der Phosphorsäureestergruppe, erst in besonders hohen Dosen erfolgen. Weiterhin fällt in der Arbeit von Eggleston auf, daß auch den steigenden Pilocarpindosen die antagonistische Atropinwirksamkeit parallel folgt, wenn von diesem Stoff höhere Dosen verabreicht werden. Solche quantitative Beziehungen sprechen auch mehr für periphere Wirkungen am vegetativen Nervensystem als am zentralen Nervensystem. Eggleston hat aber in seiner Analyse schon besonders die Lähmung efferenter peripherer Vaguswirkungen durch Atropin als Ursache der Brechhemmung ausgeschlossen, weil die meisten Anteile der muskulären Brechreaktion über den Phrenicus und Spinalnerven versorgt werden und weil die anderen Brechmittelwirkungen auch vom Atropin nicht gehemmt werden.

Es schien uns noch eine andere Deutungsmöglichkeit für den Atropinantagonismus gegen das Nicotin- und Pilocarpinerbrechen erwägens-

wert. Beide Pharmaka sind in der verwendeten Dosierung starke Krampfgifte für den Magen-Darm-Kanal. Es könnte vielleicht das Auftreten heftiger Koliken und Spasmen, wenn diese auch mit Durchblutungsstörungen des Darmes einhergingen, Ursache für eine Reflexauslösung sein. Die beiden Stoffe würden also nicht direkte periphere Receptoren reizen (wie Emetin, $CuSO_4$ u. a.), sondern indirekt über schmerzhafte Darmkontrakturen wirken. Auch für das Digitaliserbrechen ist diese Deutungsmöglichkeit noch nicht experimentell berücksichtigt. Digitalisglykoside vermögen in hohen Dosen am glatten Muskel des Magen-Darm-Kanals spastische Kontrakturen auszulösen, die durch Atropin nicht zu hemmen sind. Eine gleichartige Deutungsmöglichkeit wäre vielleicht gegeben in der klinisch bekannten häufigen Kombination von Brechdurchfällen oder des Erbrechens allein beim Ulcusleiden und Pylorospasmus, wo nicht immer chemische Reizstoffe von der Schleimhaut aus beide Wirkungen koordiniert auslösen müßten. Wenn Atropin in der kleinen Dosierung solche Kontrakturen nach Pilocarpin oder Nicotin löste, wäre damit auch die Ursache für ein reflektorisches Erbrechen beseitigt.

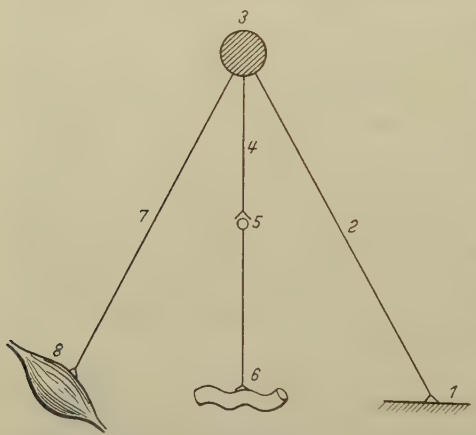


Abb. 1. Schema der Brechreflexbahnen: *1.* Sensible Receptoren in Herz, Magen, Abdomen und Becken; *2.* Afferente, sympathische und parasympathische Bahnen; *3.* Brechzentrum in der Med. oblongata; *4.* Efferente Bahnen im Splanchnicus und Vagus; *5.* Autonome Ganglien; *6.* Erfolgsorgane Pylorus, Kardia und Magen; *7.* Bahnen zur Innervation der quergestreiften Muskulatur von *8.* Bauchpresse und Zwerchfell (Endplatte).

Neben dieser Frage schien auch eine experimentelle Analyse der antagonistischen Beeinflußbarkeit pharmakologischer Brechwirkungen mit modernen Ganglienblockern, Spasmolyticis und Novocain von Interesse. Wir haben in einer vorausgehenden Arbeit die Wirkung solcher Stoffe gegenüber der reflektorisch-toxischen Digitalisbradykardie und dem -Erbrechen vergleichend geprüft und einige nicht ganz geklärte Unterschiede im Verhalten gefunden (Busse u. Lendle). Novocain verhütete das Erbrechen nicht, Nicotin und Pendiomid erst in hohen Dosen gelegentlich und Tetraäthylammoniumbromid am deutlichsten.

Eine Analyse der Wirkungsweise von Antagonisten zur Brechreaktion ist schwierig, weil diese Stoffe selbst nicht immer einen einheitlichen Angriffspunkt haben und weil die Möglichkeiten der Unterbrechung einer koordinierten Brechreaktion vielseitige sind. Es mag daher ein schemati-

scher Überblick der möglichen Angriffspunkte an Hand einer Skizze vorausgeschickt werden, um die späteren Diskussionen knapper halten zu können.

Wenn man das vorstehende Schema der Reaktionsmöglichkeiten von Brechmitteln benutzt, um etwaige antagonistische Eingriffe festzulegen, so könnte man diese für Novocain nach seinen bekannten Angriffspunkten bei 1, 3, 6 und eventuell 5 ansetzen, oder für Atropin bei 6, vielleicht auch bei 1 (laut Einleitung) und eventuell bei 3 (gemäß Eggleston). Für Ganglienblocker bliebe 5 der wichtigste Ort eines Eingriffs, in höheren Dosen würde auch 6 in Frage kommen.

Ob an Hand dieses Schemas Schlüsse auf die antagonistische Wirkungsweise verschiedener Pharmaka gegen verschiedene Brechmittel möglich sind, sollten experimentelle Untersuchungen zeigen. Insbesondere schien es uns wichtig, den Einfluß der neuen Ganglienblocker auch in dieser noch nicht beachteten Richtung zu prüfen, um die Möglichkeiten einer etwaigen praktischen Verwendung zu klären.

Verwendet wurden folgende Stoffe*:
Pendiomid (N,N,N′,N′, -3-pentamethyl-N,N′-diäthyl-3-aza-pentylen-(1,5)-diammonium-dibromid)
TEA (Tetraäthylammoniumbromid)
Buscopan (1-N-Butyl-scopolammoniumbromid)
Nicotin
Novocain (p-Amino-benzoyl-diäthylamino-äthanol)
Dibenamin (Dibenzyl-β-chloräthylamin)
Papaverin.

I. Methodik.

Als Versuchstiere dienten Hunde in nüchternem Zustand. Sie erhielten subcutan die verschiedenen Brechmittel in wirksamen Dosierungen: Apomorphin 0,05 mg/kg, Nicotin 0,4 mg/kg und Pilocarpin 1,2 mg/kg. 20—30 min vorher wurden die zu prüfenden Antagonisten verabreicht. Dibenamin wurde 60 min vorher intravenös injiziert. Da seine Wirkungsgeschwindigkeit nicht sehr groß ist und seine Wirkungsdauer lange anhält, wurden auch noch mehrere Stunden, bis 24 Std später, Brechmittelwirkungen geprüft.

Papaverin wurde wegen seiner schlechten Resorbierbarkeit vom subcutanen Gewebe aus 20 min vorher intraperitoneal injiziert. Angaben über die Dosierung der Antagonisten finden sich in den späteren Zusammenstellungen. Die Gaben wurden in einem großen Bereich variiert, um keine Wirkungsmöglichkeiten zu übersehen. Außer den Brechreaktionen, die nach Anzahl und zeitlichem Beginn protokolliert wurden, wurde auch die Pulsfrequenz vor und nach Verabreichung der Mittel im Abstand von 10—15 min durch Palpation gezählt. Die im folgenden mit angegebenen Ergebnisse der Beeinflussung von Digitalisbrechwirkungen stammen aus der vorausgegangenen Arbeit von Busse u. Lendle.

II. Antagonistische Wirkungen von Brechmittelreaktion.

Eine Zusammenstellung aller erzielten Befunde wird in Tab. 2 vorgelegt, in der die Abschwächung der Brechreaktion durch die Zeichen (+), ±, — gegenüber der vollen Wirkung (= +) festgelegt ist. Der

* Den Herstellerfirmen danken wir an dieser Stelle für die Überlassung von Versuchsmengen.

Tab. 2 sei noch eine Zusammenstellung von Einzelversuchen in Tab. 1 vorausgeschickt. Daraus läßt sich übersehen, in welcher Weise die Endergebnisse in Tab. 2 materialmäßig begründet sind. Es wurde auch jeweils die Wirkung auf die Pulsfrequenz beachtet. Eine systematische Auswertung dieser Beobachtung, die zum Teil erhebliche Schwankungen der Werte boten, zeigte aber keine konstanten und eindeutigen Reaktionen, wie sie z. B. für die Beeinflussung der Digitalisbradykardie mit

Tabelle 1. *Brechmittel nach Pendiomid und Novocain.*

Vorbehandlung mg/kg	Pulsfrequenzen vorher	Pulsfrequenzen nachher	Brechmittel	Pulsfrequenz in 5–20 min	Erbrechen Anzahl
Pendiomid 20	144	132—120	Apomorphin	120—100—136	3
20	160—172	132	0,05 mg/kg	176—112	4
20	160—148	156		112—128	3
10	116—140	96		über 130	0
10	144—120	132		über 140	1
10	168—100	120		156—120	2
5	126—156	120		168—156	5
5	136—120	96		174—162	4
5	80—120	76		144—180	2
2,0	76—78	68		114—124	1
Pendiomid 10	168	—	Nicotin	133—170—152	0
10	168	—	0,4 mg/kg	126—168—140	0
3,0	160	172—156		162—146	0
3,0	138	140		152—136—152	0
2,0	104	84—116		128—168—144	0
1,0	132	112—160		168—136	0
0,5	116	116—148		120—132—168	2
0,5	172	164—140		140—196—164	0
0,5	112	136		160—132—128	0
0,2	140	130		108—144—120	0
0,2	112	120		126—108	0
0,2	132	116—112		92—120—116	0
0,1	108	100		88—116—88	0
0,1	100	95		104—116	2
0,1	156	136—164		172—136	5
Novocain 30	68	—	Nicotin	90—112—140	4
30	156	—	0,4 mg/kg	150—112—140	6
20	150	—		132—152	0
20	100	—		108—92	7
20	150	142		156—144	0
10	84	90		68—140—100	1
10	128	112		120—168—132	4
10	108	130		104—136	0
10	132	120—136		120—108—102	0
5,0	156	130		132—148—128	1
5,0	126	120		150—176—120	4
2,5	156	160		150—168—148	5
2,5	108	120		116—108—144	2

den gleichartigen Stoffen in der vorausgegangenen Arbeit von Busse u. Lendle nachgewiesen worden ist. Aus der Tab. 2 lassen sich folgende Befunde zur Diskussion entnehmen.

1. Eine wirkliche Aufhebung von Brechreaktionen war nur für das Nicotinerbrechen möglich, während das Apomorphin- und Pilocarpinerbrechen durch die beim Nicotinerbrechen wirksamen Stoffe nicht zu beeinflussen ist. Das Digitaliserbrechen zeigte nur gegenüber TEA eine sichere Hemmbarkeit, aber schon ungewiß gegenüber Novocain.

Tabelle 2. *Brechmittelwirkungen nach Vorbehandlung.*

Vorbehandlung	mg/kg	Apomorphin	Nicotin	Pilocarpin	Digitalisglykoside
Pendiomid	10			+	
	20	+			(+)
	0,2		—		
TEA	10—20	+	—	+	±
Buscopan	20	+			
	10—20		—		
	1—2			—	
Nicotin	0,3—0,5		+		(+)
Novocain	20		±*	—	+
Papaverin	10		(+)	(+)	+
Dibenamin	6—10		(+)	(+)	

* 30 mg/kg Novocain bewirkten selbst Erbrechen.

2. Die gegen das Nicotinerbrechen antagonistisch wirksamen Stoffe erwiesen sich alle als „ganglionär blockende" Stoffe, zu denen man auch wohl das Novocain rechnen darf, das hier aber nicht so zuverlässig wirkte, weil es in der erforderlichen hohen Dosierung zum Teil schon selbst Brechreaktionen auslösen kann.

3. Es muß fraglich erscheinen, ob diese Stoffe auf Grund ihrer „Ganglienblockade" das Nicotinerbrechen aufheben, denn dann müßten sie ja auch das Apomorphin- und Pilocarpinerbrechen aufheben, welches über die gleichen vegetativen Ganglien die glatte Muskulatur des Magen-Darm-Kanals an dem Vorgang beteiligt.

4. Die Tatsache, daß von den genannten Stoffen das Pendiomid und TEA nur das Nicotin-, nicht aber das Pilocarpinerbrechen aufheben, spricht dafür, daß sie nicht über eine bestimmte zentrale Stelle lähmend wirken, wie Eggleston es für Atropin gegenüber Nicotin und Pilocarpin annimmt.

5. Da die genannten Stoffe mit Ausnahme des Pendiomids erst in sehr hohen Dosierungen wirksam werden, könnte man annehmen, daß sie vielleicht auch über die einleitend erörterte Möglichkeit einer indirekten Hemmung über die Ausschaltung der Kontraktur der glatten Muskulatur eine reflektorische Brechreaktion verhindern. In hohen Dosen ver-

mögen nämlich die genannten Stoffe auch alle spasmolytisch zu wirken. Gegen diese Auffassung spricht aber die Feststellung, daß

6. Papaverin selbst in sehr hohen Dosen verabreicht keine gleichartig antagonistische Wirkung ausübt, auch nicht beim Digitaliserbrechen. Damit entfällt also auch die einleitend ausgesprochene Hypothese.

7. Für das Pendiomid fällt noch auf, daß es in sehr viel niedrigerer Dosierung als es z. B. für die Beeinflussung der Digitalisbradykardie oder zur Ausschaltung des Herzvaguseffektes (Erdmann u. Mercker) erforderlich ist, schon das Nicotinerbrechen aufhebt. Es scheint uns möglich, daß hier beim Pendiomid, aber auch beim TEA eine spezifisch „nicotinolytische" Wirkung eine Rolle spielt, so daß also die Verhütung des Brecheffektes gar nicht auf einer spezifischen Unterbrechung im koordinierten Zusammenspiel der nervösen Impulse beim Brechakt beruhen würde, sondern auf einem physiologischen Antagonismus (vielleicht auf einer Verdrängungsreaktion) zwischen Nicotin und Nicotinolyticum. Ein solches Verhalten ist von Tripod für verschiedene Ganglienblocker, Spasmolytica und spezifische Nicotinolytica schon vergleichend geprüft worden.

8. Buscopan verhütet schon in relativ geringen Dosen das Pilocarpinerbrechen. Diese Wirkung entspricht durchaus seinem Atropincharakter. Da es das Nicotinerbrechen aber erst in der etwa 10fachen Dosis hemmt, scheint hier ein anderer — vielleicht „nicotinolytischer" — Wirkungsmechanismus vorzuliegen.

9. Für das Nicotinerbrechen erwies sich eine vorausgehende Verabreichung von Nicotin nicht als Hemmung. Diese Feststellung ist deswegen wichtig, weil man ja auch annehmen könnte, daß Nicotin wie am glattmuskligen Organ bei wiederholten Gaben „tachyphylaktisch" wirksam ist und daß diese „Schnellgewöhnung" auch vielleicht Ursache für eine Abschwächung der Nicotinnebenwirkungen beim Rauchen ist (vgl. Busse). Eine Zusammenstellung in Tab. 3 zeigt aber die unverminderte Wirksamkeit von drei schnell aufeinander folgenden Nicotingaben.

Tabelle 3. *3 Nicotin-Injektionen 0,4 mg/kg subcutan im Abstand von 20 min.*

Hund	Injektion	Frequenzänderung	Erbrechen
Molly, 9,5 kg	I	150 → 100	3mal ab 5 min
	II	132 → 104	2mal ab 9 min
	III	124 → 112	0 (speichelt)
Nora, 10 kg	I	162 → 132	0 (leckt)
	II	120 → 208—156	4mal ab 8 min
	III	144 → 216—168	3mal ab 14 min (zittert
Max, 12,1 kg	I	104 → 116—130	2mal ab 18 min
	II	144 → 120—120	4mal ab 8 min
	III	136 → 124—132	2mal ab 8 min

Aus unseren Befunden läßt sich noch eine allgemeine Feststellung ableiten. Die Unterbrechung der Impulse im vegetativen Nervensystem durch Ganglienblockierung oder die Ausschaltung der glatten Muskulatur durch sehr hohe Papaverindosen sind nicht in der Lage, die Brechreaktionen aufzuheben. Das ist aber verständlich, weil die Brechreaktionen ja nicht allein über den Magen-Darm-Kanal, sondern auch über die quergestreifte Muskulatur der Bauchpresse, des Zwerchfells und des Thorax zustande kommen, also Gebiete der spinalen Innervation. So nimmt auch Catel an, daß nach Durchschneidung von Vagus und Splanchnicus trotz ruhiggestelltem Magen die Brechentleerung über die genannte Tätigkeit der quergestreiften Muskulatur noch zustande kommt.

Unsere negativen Befunde stehen in einem gewissen Gegensatz zu neuen Angaben von J. Cheymol u. Quinquand, daß sogar Apomorphinerbrechen (1 mg/kg!) am Hund durch die Verabreichung von Yohimbin (0,5—3,0 mg/kg) und Ergotamin (1 mg/kg) aufgehoben werden kann. Wenn dies über eine Ausschaltung der sympathischen Innervation erklärt werden soll, widerspräche es dem soeben Ausgeführten. Es mag auch dazu erwähnt werden, daß wir mit Dibenamin (6—10 mg/kg i. v.) keine Verhütung des Erbrechens nach Nicotin und Pilocarpin erzielten.

Zur Frage der Lokalisation des Atropinantagonismus gegenüber dem Pilocarpin- und Nicotinerbrechen bringen unsere Befunde nur das negative Ergebnis, daß die einleitend erörterte Erklärungsmöglichkeit über eine Verhütung von Kontrakturen im Magen-Darm-Kanal als auslösende Brechreize wohl keine Rolle spielt. Egglestons Annahme, daß Atropin an anderer Stelle im Brechzentrum einen Antagonismus bewirke als dort, wo das Apomorphin direkt oder Brechreflexe von der Peripherie her indirekt das Erbrechen auslösen, könnte in neueren anatomischen Feststellungen über ein ausgedehntes Areal des Brechzentrums in Verbindung mit anderen Systemen eine mögliche Begründung finden. Wang u. Borison versuchten eine Lokalisation durch Reizversuche, fanden aber keine neuroanatomische Einheit. Sie nehmen eine Zone im dorsalen sensiblen Vaguskern als afferenten Teil des „Brechkomplexes" an, nach dessen Zerstörung mittels Diathermie auch die Apomorphinempfindlichkeit auf $^1/_{40}$ herabgesetzt wurde. Brechreaktionen, die von dieser Stelle ausgelöst werden, stünden immer in Verbindung mit Speichelfluß, krampfartigen Atmungsbewegungen und zwangsmäßiger Inspiration. Fr. Zipf u.Mitarb. beobachteten an Kaninchen, das bekanntlich wie andere Nagetiere nicht erbrechen kann, nach Veratringaben Schlucken und Würgen, das nach Durchschneidung der Vagi, des Glossopharyngeus und Hypoglossus unterblieb. Atropin in hohen Dosen (1 mg/kg) hemmte dagegen diese Parallelreaktion zum Erbrechen nicht und Novocain (bis 20 mg/kg) hemmte nur andeutungsweise.

Zusammenfassung.

Ausgehend von den experimentellen Erfahrungen bei der Analyse des toxischen Digitaliserbrechens wurden Novocain, Ganglienblocker und andere Stoffe gegenüber der Brechwirksamkeit verschiedener Pharmaka (Apomorphin, Nicotin, Pilocarpin, Digitoxin) geprüft.

Ganglienblocker, besonders Pendiomid, aber auch Novocain und Buscopan, hemmten das Nicotinerbrechen, nicht dagegen das Erbrechen nach Apomorphin.

Auch gegenüber dem Pilocarpinerbrechen erwiesen sich Pendiomid und Tetraäthylammoniumbromid (TEA) wirkungslos, während das Erbrechen nach Nicotin und Pilocarpin durch Atropin zentral ausgeschaltet werden soll. Buscopan verhält sich dagegen wie Atropin gegenüber dem Pilocarpinerbrechen.

Die Pendiomid- und TEA-Wirkung gegenüber Nicotin läßt an eine spezifische „nicotinolytische" Wirkung denken.

Die Frage, ob durch pharmakologisch bedingte Kontrakturen im Magen-Darm-Kanal Erbrechen ausgelöst werden kann, konnte negativ entschieden werden, da Papaverin gegenüber Pilocarpin, Digitoxin und Nicotin unwirksam war. Ebenso war Dibenamin gegenüber Nicotin und Pilocarpin unwirksam.

In kurzen Abständen wiederholte Nicotin-Brechdosen führten zu keiner tachyphylaktischen Reaktion, was im Hinblick auf das bekannte Gewöhnungsphänomen bei chronischer Nicotinzufuhr bemerkenswert erscheint.

Literatur.

Busse, W.: Z. exper. Med. **118**, 573 (1952). — Busse, W., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 159 (1953). — Catel, W.: Bewegungsvorgänge am Ges.-Verdauungskanal, Bd. II, S. 113. Leipzig 1936. — Chleymol, D., et Quinquand: C. r. Soc. Biol. Paris **144**, 400 (1950); zit. Ber. Physiol. **149**, 112. — Eggleston, C.: J. of Pharmacol. **9**, 11 (1917). — Erdmann, W. D., u. H. Mercker: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — Hatcher u. Mitarb.: J. Amer. Med. Assoc. **89**, 429 (1927). — J. of Pharmacol. **46**, 97 (1932). — Tripod, J.: Brit. J. Pharmacol. **4**, 323 (1949). — Wang, S., and H. Borison: Arch. of Neur. **63**, 196 (1950). — Zipf, Fr., u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck).

Prof. Dr. L. Lendle,
Pharmakologisches Institut der Universität Göttingen, Geiststraße 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 177—192 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Zur Frage des nervösen oder muskulären Angriffspunktes von darmwirksamen Pharmaka*.

(Nach Versuchen am Trendelenburgschen Präparat.)

Von
W. Busse, J. Wolf und L. Lendle.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Oktober 1952.)

Die Frage nach dem Angriffspunkt, insbesondere nach der Beteiligung nervöser Elemente an der Wirkung darmerregender Stoffe, ist ein altes Problem. Diese Aufgabe besteht auch bei jeder pharmakologischen Analyse von spasmolytischen Stoffen. Man pflegt nach einem gewissen Schema Stoffe, welche Bariumerregungen zu hemmen vermögen, als „muskulärlähmend" zu bezeichnen, weil man dem Barium nur eine muskelerregende Wirkung zuschreibt. Das Acetylcholin dagegen soll am Muskelsubstrat einen so spezifischen Angriffspunkt haben, daß seine Wirkung von Parasympathicolyticis, die keine muskuläre Lähmung verursachen, aufgehoben wird.

Baur hat sich schon vor mehr als 20 Jahren um eine differenzierende Analyse der pharmakologischen Wirkungen an der Trendelenburgschen Methode bemüht, bei welcher ein isoliertes Darmstück durch Füllungsdehnung vom Lumen aus zu peristaltischen Kontraktionen der Ringmuskulatur neben gleichzeitigen Kontraktionen der Längsmuskulatur veranlaßt wird. Hier hat Baur aus „Phasenverschiebungen" im zeitlichen Kontraktionsablauf der beiden Muskellagen versucht, den speziellen nervösen Angriffspunkt von Giften festzustellen. So fand er z. B. für die Wirkung kleiner Bariumdosen eine Parallele zu der Reaktion, die durch Vermehrung des Füllungsvolumens und damit eine Dehnungssteigerung der Darmwand verursacht wird. Er schloß daraus auf eine muskuläre Wirksamkeit. Dem Pilocarpin dagegen, welches im Zusammenspiel von Längs- und Ringmuskulatur eine typische Phasenänderung verursacht, schrieb Baur nach seinen Ergebnissen sowohl eine muskuläre als auch eine ganglionäre Wirkung zu, während er bei Physostigmin, welches ebenfalls zu einer Phasenverschiebung führt, eine rein ganglionäre Wirksamkeit annahm.

Die Frage des nervösen Angriffspunktes hat insbesondere bei dem Nicotin Interesse gefunden, weil dieses aus Studien an anderen Organen als typisch ganglionäres Gift bekannt ist, welches in kleinen Dosen erregend und in großen Dosen lähmend wirken kann. Am isolierten Darmpräparat nach Magnus vermag Nicotin bei Zusatz größerer Konzen-

* Herrn Professor Dr. E. P. Pick-New York zum 80. Geburtstag gewidmet.

trationen nach einer vorübergehenden Erregung den Darm in den Zustand der Unempfindlichkeit gegen die gleiche Dosis Nicotin zu setzen („Tachyphylaxie"). Der naheliegende Gedanke, daß es sich hier um eine Lähmung der Ganglien als Angriffspunkt handelt, kann aber als widerlegt betrachtet werden. Eine erneute Gabe einer mehrfach höheren Nicotindosis löst nämlich wieder eine Kontraktur aus. Die Tachyphylaxie war also nur eine relative. Dem Nicotin kommen auch insbesondere nach Untersuchungen von Richter gerade in diesem Zustand der Tachyphylaxie eindeutige Muskelwirkungen zu, so daß hier auch solche Gifte, welche nur muskulär wirksam sind, in ihrer Wirkung abgeschwächt werden können.

In den letzten Jahren sind einige besondere pharmakologische Gruppen im Hinblick auf ihre Darmwirksamkeit stärker beachtet worden, nämlich Curarepräparate und die sogenannten „Ganglienblocker". Auch für das Curarin wird vielfach eine lähmende Wirkung auf Ganglien oder das autonome Nervensystem angenommen, wenigstens bei höheren Dosierungen.

Für diese Auffassung wurde neuerdings von Werner ein besonderer Beweis vorgelegt. Er zeigte am Trendelenburg-Darmpräparat, daß geeignete Curarin-Konzentrationen den Peristaltik-Reflex der Ringmuskulatur aufheben, und daß nach Verabreichung von Prostigmin dieser Reflex wieder auslösbar wird in Gegenwart der gleichen Curarin-Konzentration. Es würde hier also ein Parallelismus zum Antagonismus Curarin/Prostigmin an der Nerven-Muskel-Endplatte bestehen, und man könnte annehmen, daß die Hemmung der Esterase durch Prostigmin im Ganglion oder an den postganglionären Nervenendigungen eine vermehrte Acetylcholinwirkung ermöglicht, die dann die Curarewirkung zu durchbrechen vermag. Lach beschäftigte sich mit dem gleichen Problem am isolierten Darmstreifen nach Magnus und prüfte für Curarin und andere curareartig wirkende Stoffe sowie auch für Nicotin das antagonistische Verhalten gegenüber verschiedenen Erregern der Darmautomatie bzw. von Kontrakturgiften für den glatten Darmmuskel. Dabei war er bestrebt, durch Variation der Dosen beider Kombinationspartner die quantitativen Beziehungen und Grenzen solcher antagonistischer Wirkungen zu erkennen. Er fand, daß Tubo- und Kalebassen-Curarin für erregende Grenzdosen von Nicotin und Doryl in der gleichen Größenordnung lähmend wirkten, jedoch die muskuläre Barium-Kontraktur nicht beeinflussen konnten. Die Curare-Präparate wiesen mit vereinzelten Ausnahmen einen parallelsteigenden Antagonismus gegenüber Nicotin und Prostigmin auf, konnten jedoch die Physostigminwirkung nicht hemmen. Atropin, Dibenamin und Pendiomid hemmten Nicotin erst in sehr hohen Dosen, während Prostigmin und Physostigmin durch Pendiomid nicht beeinflußt wurden. Unter Nicotin-Tachyphylaxie blieb die Eigenwirkung von Prostigmin, Physostigmin und Curarin erhalten. Lach glaubt auf Grund seiner Versuchsergebnisse für Curarin und Nicotin einen muksulären Angriffspunkt am Darm annehmen zu können.

Inzwischen kamen uns die interessanten Ergebnisse von Feldberg u. Lin zur Kenntnis, die wieder am Trendelenburg-Präparat, aber auch am Darmstreifen nach Magnus ähnliche antagonistische Wirkungen, allerdings mit weniger variierten Dosierungsbedingungen, geprüft

hatten. Sie gingen von der Voraussetzung aus, daß Stoffe, welche am Darm „nervös" lähmen, durch folgendes Verhalten charakterisiert sein müssen:

1. Hemmung des Peristaltikreflexes der Ringmuskulatur,

2. Hemmung der Nicotin-Kontraktur in Konzentrationen, die geringer sind als die lähmenden Konzentrationen für muskulär erregende Gifte.

Als „muskulär" erregend bezeichnen sie Gifte, die besonders an der Längsmuskulatur eine Tonussteigerung auslösen können und die spontane Rhythmik am Magnus-Präparat beeinflussen. Als typisch muskulär wirksam gelten ihnen Histamin und Acetylcholin, als typisch nervös Nicotin.

Weiter sprachen die Verfasser der Längsmuskelautomatie des Darmes einen ganglionären Ursprung ab. Die automatischen Pendelbewegungen, ja sogar die Kontraktionen der Längsmuskulatur im Verlauf der Füllungsperistaltik sollen ohne Beteiligung des Nervensystems zustande kommen. Diese Auffassung dürfte kaum den anatomischen Gegebenheiten entsprechen, denn sowohl in der Ring- wie auch in der Längsmuskulatur des Darmes können Nervenendplexus nachgewiesen werden (Feyrter) und die wohl übergeordneten ganglionären Elemente liegen zwischen beiden Muskellagen. Nach Feldberg sollen die Längenschwankungen der Längsmuskulatur im Verlauf der Füllungsperistaltik so zustande kommen, daß die Aktivität der ganglionär ausgelösten Ringmuskulatur jeweils die muskulär bedingten Kontraktionen der Längsmuskulatur unterbricht. Dagegen deutet Trendelenburg die Tätigkeit der Längsmuskulatur als eine Aufeinanderfolge von aktiver Erregung und aktiver Hemmung, da die Fußpunkte der Längsmuskulatur während der Peristaltik häufig unter der Linie der Ausgangslage liegen und er zweifelt nicht an der neurogenen Entstehung der peristaltischen Tätigkeit auch der Längsmuskulatur. Auch wir konnten verschiedentlich im Verlauf unserer Versuche am Trendelenburgschen Präparat beobachten, wie peristaltische Wellen über die Längsmuskulatur hinwegliefen, obwohl die Ringmuskulatur sich in Ruhe befand.

In einer weiteren systematischen und streng durchdachten Arbeit hat Feldberg in Ablehnung der von Ambache vertretenen Auffassung, daß auch Bariumchlorid, Histamin und Pilocarpin, die zum Teil am oberen Cervical-Ganglion erregend wirken sollen, ebenfalls am Darm einen ganglionären Angriffspunkt hätten, sich weiter mit diesen Fragen befaßt. Als Endergebnis seiner Untersuchungen stellt er dabei fest, daß von den erörterten Stoffen nur Histamin ein rein muskulär erregendes Gift, nur C 6 (Hexamethoniumjodid) ein ganglionär lähmendes Gift ist, und daß Bariumchlorid bei verschiedenen Tierarten auch am Darm eine ganglionär erregende Wirkung zeigen kann.

Wir hatten in eigenen Versuchen am Trendelenburg-Präparat des Meerschweinchens mit verschiedenen erregenden Pharmaka auch unter sogenannter Ganglienblockierung durch Pendiomid und Nicotin keine absolute Lähmung gefunden, sondern eine Durchbrechung durch Stoffe von angeblich muskulärem Angriffspunkt. Bei diesem Antagonismus traten plötzlich wieder normal koordinierte peristaltische Kontraktionen beider Muskelschichten unter gleichgebliebenem Füllungsdruck auf. Bei der Durchsicht der Versuche von Trendelenburg selbst fanden wir auch schon eine ähnliche Beobachtung mit Pilocarpin bei der Nicotinlähmung beschrieben. Auch Feldberg u. Lin beobachteten übrigens gelegentlich ähnliche Möglichkeiten der Wirkung, ohne sie aber besonders auszuwerten.

Die Absicht unserer eigenen Untersuchungen war es nun zu klären, wie weit die Ausschaltung eines Peristaltikreflexes tatsächlich durch eine ganglionäre Lähmung bedingt ist, oder ob eine solche vorgetäuscht werden kann durch eine Herabsetzung des Muskeltonus, wodurch auch der Dehnungsreiz bei gleicher Darmfüllungsbelastung vermindert werden würde. Bei dieser Annahme müßten Stoffe, die auch rein muskulär lähmend wirken, den Peristaltikreflex aufheben können, und Stoffe, die muskulär erregend wirken, könnten antagonistisch die Reflexerregbarkeit für Dehnungsreize wiederkehren lassen.

Wir sind uns dabei im klaren, daß diese Zusammenhänge eigentlich in der Arbeit von Trendelenburg sowie im Grundprinzip der Straubschen Methodik zur Prüfung der Reflexerregbarkeit am Darm in vivo schon enthalten sind.

Nach Abschluß unserer experimentellen Arbeiten wurde uns eine Untersuchung von Schaumann, Giovanni u. Jochum bekannt, in der sie den Peristaltikreflex des isolierten Darmes als Modell für den Schmerzreflexbogen benutzten, nachdem sich gezeigt hatte, daß Morphin und morphinähnliche Analgetika den Peristaltikreflex zu hemmen vermochten. Es zeigte sich dabei, daß das Verhältnis der Wirkungsstärken an beiden Reflexbögen in annähernder Übereinstimmung lag. Auch sie nehmen eine ganglionäre Unterbrechung des Peristaltikreflexes durch die von ihnen untersuchten Stoffe an.

I. Methodik.

Es wurde die Trendelenburgsche Methode in üblicher Anordnung benutzt. Nach Ermittlung des sicher die Peristaltik auslösenden Füllungsdruckes wurde die Grenzkonzentration des jeweils hemmenden Stoffes ermittelt. Bei der Festlegung dieser Hemmdosis verlangten wir ein solches Maß an Wirkung, daß sich unter dem Stoff eine Peristaltik selbst bei Erhöhung des Füllungsdruckes nicht mehr auslösen ließ. Nach Prüfung der Auswaschbarkeit dieser Wirkung gaben wir nach einer erneuten Lähmung in steigender Dosis erregende Stoffe hinzu.

Darmstücke, deren Tonus sehr schlaff war, so daß die Peristaltik bald erlosch, wurden nicht benutzt und gegen frische, bessere Präparate ausgetauscht, die jeweils von dem gleichen Tier entnommen wurden, das während der Versuchsdauer unter einer Urethannarkose (1,5 g/kg) hierzu bereitgehalten wurde.

Die Erregungsstoffe im Antagonismus zu den Peristaltikhemmern durften nicht zu hoch dosiert werden, weil sonst Spasmen der Längsmuskulatur, aber auch vielfach der Ringmuskulatur (Plateaubildung in den Kurven) eine Peristaltik unmöglich machten. Im Falle eines Wiederkehrens der Peristaltik unter einem Erreger wurde in den meisten Fällen die Dosis des Hemmers gesteigert, so daß sich dann

die Beziehungen im quantitativ steigenden Antagonismus bis zu einem gewissen Grade darstellten.

Bei der folgenden Auswertung der Kurven wurde insbesondere das tonische Verhalten der Längs- und Ringmuskulatur unter den verschiedenen Giften mitbeachtet. Zur deutlichen Darstellung der Tonusverhältnisse belasteten wir den Schreibhebel der Längsmuskulatur nicht über 1,0 g und wählten einen Hebelarm von etwa 1:8.

II. Versuchsergebnisse.

Eingangs sei ein typisches Beispiel für den Antagonismus einer Peristaltiklähmung und seiner Durchbrechung vorgelegt:

Wir erzielten unter Chinin ab 5×10^{-6} einen Stillstand der peristaltischen Tätigkeit des Darmstückes. (In einigen Versuchen war die Konzentration von 10^{-5} zur Lähmung erforderlich.) Dabei sank der Längsmuskeltonus sofort ab und ebenso erschlaffte die Ringmuskulatur. Geringere Konzentrationen riefen nur eine vorübergehende Lähmung hervor.

Wurden steigende Histamindosen zugesetzt, so erwies sich die Chininlähmung als durchbrechbar. Die hierzu benötigten Histaminkonzentrationen lagen bei $1{,}2—3 \times 10^{-7}$ (siehe Abb. 1). Unterschwellige Histamingaben führten nur zu einer tonischen Reaktion der Längsmuskulatur, während die Ringmuskelschicht erschlafft blieb.

Während allerdings vorher eine Dauerperistaltik bestanden hatte, zeigte das Darmstück nach Zusatz der beiden Stoffe nur noch eine „Gruppenperistaltik", d. h. zwischen den Peristaltikaktionen lagen Pausen, in denen das Darmstück wieder erschlaffte. In ähnlicher Weise war auch Doryl in unseren Versuchen wirksam, wenn es in Konzentrationen von mindestens 5×10^{-8} zugesetzt wurde.

Abb. 1. Chinin-Histamin-Antagonismus. Meerschweinchendünndarm der TRENDELENBURG-Anordnung. Obere Kurve: Ringmuskulatur. Untere Kurve: Längsmuskulatur. Registrierung unter 30 mm H_2O-Druck. Senkung der Kurvenlinie bedeutet Erschlaffung. Histamin durchbricht Peristaltiklähmung nach Chinin.

Weitere Untersuchungen erstreckten sich vor allem auf die Gruppe der sogenannten ganglienblockierenden Substanzen, wobei wir uns auch einiger der von FELDBERG u. Mitarb. benutzten Stoffe bedienten. Es werden die Ergebnisse von natagonistischen Versuchen mit Nicotin, Pendiomid (N,N,N′,N′-3-pentamethyl-N,N′-diaethyl-3-azapentylen(1,5)-di-ammonium-dibromid) C_6 (Hexamethoniumjodid) und d-Tubocurarin vorgelegt. Als Typ muskulärer Lähmer verwendeten wir neben dem schon eingangs beschriebenen Chinin das Sympatol

(p-Methylaminoäthanolphenol). Schließlich benutzten wir noch Atropin, dessen Angriffspunkt bei der Peristaltiklähmung ebenfalls genau festgelegt ist.

Den Lähmern setzten wir als Antagonisten außer dem Histamin als Typ muskulärer Erreger das Doryl (Carbaminoylcholinchlorid) als Erreger parasympathischer Rezeptoren zu. Weiterhin benutzten wir das Bariumchlorid.

A. Verhalten des Muskeltonus unter den Peristaltiklähmern.

Die Beachtung der muskeltonischen Reaktionen während der Lähmung erschien uns sehr wichtig, weil sich hierbei einige grundsätzliche Unterschiede bei den verschiedenen Stoffgruppen zeigten. Einmal kam es zu einer „Lähmung" der Peristaltik, die mit einer anfänglichen kontrakturähnlichen Bewegung einer oder beider Muskellagen einherging, während sich hiervon ein anderer Typ der Lähmung unterschied, bei dem es sofort nach Zugabe der Stoffe zu einem Absinken der Tonuslage kam. Die letzte Art der Reaktion erhielten wir mit Atropin, Chinin und Sympatol. Längs- und Ringmuskulatur erschlafften sofort maximal unter der gewählten Endkonzentration dieser Stoffe. C 6, Pendiomid und Curarin führten nach ihrer Zugabe anfangs unter Aussetzen der peristaltischen Tätigkeit zu einem mehr oder weniger starken Anstieg des Längsmuskeltonus. Hierbei setzte zu gleicher Zeit eine Erschlaffung der Ringmuskelschicht ein. Nach Überschreiten eines Kontrakturmaximums der Längsmuskulatur erschlaffte sie und sank dann unter das Ausgangsniveau ab. Beim Nicotin zeigte sich insofern eine Besonderheit, als es hierbei auch in der Ringmuskelschicht vor Einsetzen der Erschlaffung zu einer kurzen, schwächeren, kontrakturähnlichen Bewegung kam.

Die Ergebnisse dieser Beobachtungen finden sich zusammen mit den Konzentrationsangaben für die gewählten lähmenden Dosen in folgender Tabelle.

Tabelle 1. *Verhalten des Muskeltonus unter Peristaltiklähmern.*

Stoff	Lähmende Konzentration	Verhalten des Muskeltonus	
		Längsmuskel	Ringmuskel
Nicotin	5×10^{-7}	+, dann —	(+), dann —
C_6	5×10^{-6}	(+), dann (—)	—
Pendiomid . .	$2{,}5 \times 10^{-6}$	+, dann —	—
Curarin	10^{-6}	+, dann —	—
Chinin	10^{-5} bis 5×10^{-6}	—	—
Sympatol . . .	2×10^{-5}	—	—
Atropin	5×10^{-8}	(—)	—

Zeichenerklärung. Zunahme: stark: +, schwach: (+).
Abnahme: stark: —, schwach: (—).

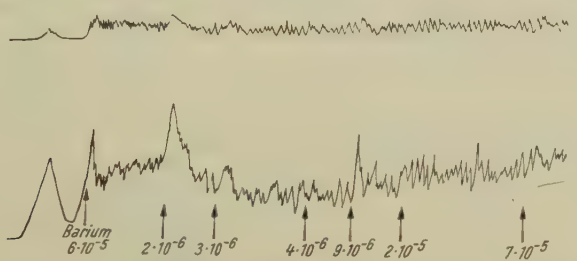
Die mögliche Bedeutung dieser Unterschiede wird im Zusammenhang mit den antagonistischen Versuchen später diskutiert werden müssen.

B. Ergebnisse der durchbrechenden Antagonismen.

1. Nicotin.

Der durch Nicotin gelähmte Darm ließ sich durch Histamin nicht zu einer erneuten Peristaltik anregen. Er reagierte lediglich mit Tonuserhöhungen der Längsmuskulatur, eine koordinierte Peristaltik blieb aus. Eine unvollkommene Nicotinlähmung (4×10^{-7}), unter der es auch zu einer spontanen Erholung der Peristaltik kommen konnte, ließ sich allerdings in mehreren Fällen durch Histamin (3×10^{-7} bis 10^{-7}) durchbrechen. Es lag aber in diesen Fällen keine wirklich genügende Lähmung vor.

Dagegen erzielten wir einen durchbrechenden Antagonismus mit Doryl. Die unter Nicotin 10^{-6} sistierende Peristaltik kehrte unter Doryl



Nicotin

Abb. 2. Nicotin-Barium-Antagonismus. Versuchsbedingungen wie bei Abb. 1. Lähmung durch Vorbehandlung mit Nicotin (10^{-6}). Steigende Bariumdosen. Die letzte Bariumkonzentration ($6 \cdot 10^{-5}$) durchbricht die Lähmung. Die unkoordinierte Barium-Peristaltik kann durch die 69fache Nicotindosis nicht mehr unterdrückt werden.

(10^{-7} bis 5×10^{-8}) wieder. Hierbei arbeitete das Darmstück in einzelnen Peristaltikgruppen, während vorher eine Dauerperistaltik bestanden hatte.

Ebenso vermochte Barium die Nicotinlähmung zu durchbrechen. Es waren hierzu Konzentrationen von 6×10^{-5} bis $1{,}4 \times 10^{-5}$ erforderlich. In unseren Versuchen konnte dann die über 50fache Nicotindosis diese wiedergekehrte Peristaltik nicht mehr lähmen (siehe Abb. 2). Bemerkenswert erscheint ferner, daß der Peristaltikablauf unter Barium in charakteristischer Weise verändert war. Es liefen nicht mehr — wie normalerweise — Peristaltikwellen über das Darmstück zielgerichtet hinweg, sondern es war zeitweise perlschnurartig kontrahiert und wies eine unkoordinierte Motorik auf.

2. Pendiomid.

Gegenüber der Pendiomidlähmung erhielten wir mit allen drei erregenden Stoffen einen durchbrechenden Antagonismus. Die antagonistischen Konzentrationen lagen beim Histamin zwischen 10^{-7} bis 4×10^{-7},

beim Doryl bei 10^{-7}; Barium prüften wir im Bereich von 4×10^{-4}. Pendiomid ließ sich im Bereich der lähmenden Grenzkonzentrationen durch Histamin und Doryl antagonisieren. Ein durchbrechender Antagonismus mit Barium wurde gegenüber einer Pendiomidkonzentration bis zu 8×10^{-5} erhalten. Die Barium-Peristaltik wies wiederum die oben beschriebenen Merkmale auf. Unter Histamin und Doryl schrieb das Darmstück im allgemeinen eine koordinierte Gruppenperistaltik (siehe Abb. 3). In einem Falle kehrte unter Histamin sogar eine Dauerperistaltik wieder.

Abb. 3.

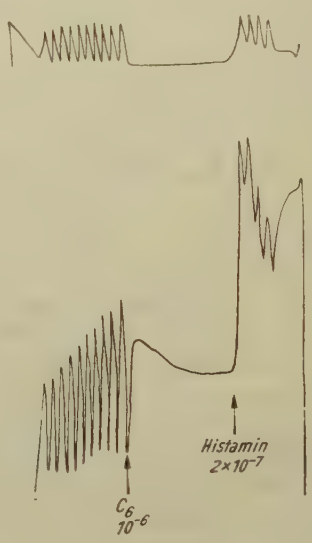


Abb. 4.

Abb. 3. Pendiomid-Histamin-Antagonismus. Versuchsbedingungen wie bei Abb. 1. Histamin durchbricht Peristaltiklähmung nach Pendiomid.

Abb. 4. C_6-Histamin-Antagonismus. Versuchsbedingungen wie bei Abb. 1. Histamin durchbricht Peristaltiklähmung nach C_6.

3. C_6.

In unseren Versuchen ließ sich auch der durch C_6 gelähmte Darm durch Histamin zu erneuter Peristaltik anregen (siehe Abb. 4). Als sicher lähmende C_6-Konzentration erwies sich 5×10^{-6} (in einigen Versuchen auch schon 10^{-6}). Gegenüber der C_6-Lähmung war Histamin ab 10^{-7} antagonistisch wirksam. Oberhalb einer C_6-Konzentration von 2×10^{-5} blieb Histamin hingegen unwirksam. Es wurde nur bis zur Histaminkonzentration von 4×10^{-7} geprüft, weil es darüber Spasmen der Längs- und Ringmuskelschicht hervorrufen konnte, die jede Peristaltik ausschlossen.

Doryl im üblichen Dosierungsbereich vermochte ebenfalls die C_6-Lähmung zu durchbrechen. Im Bereich der lähmenden Grenzkonzen-

tration kam es zu einer Dauerperistaltik unter Dorylzusatz (2×10^{-8}). Die doppelte lähmende Grenzdosis benötigte eine Dorylkonzentration von $6{,}7 \times 10^{-8}$, unter der ebenfalls eine Dauerperistaltik wiederkehrte.

4. d-Tubocurarin.

Den Antagonismus gegenüber peristaltiklähmenden d-Tubocurarin-Konzentrationen prüften wir mit Histamin und Barium. Hier zeigte sich, daß Histamin die d-Tubocurarinwirkung gut zu durchbrechen vermochte. Es führte noch unter der 4fachen lähmenden d-Tubocurarin-Dosis zu einem Wiederkehren der Peristaltik, die in fast allen geprüften Dosenbeziehungen zwischen den Antagonisten (im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Versuchen) hier eine Dauerperistaltik war. Hiermit bestätigten wir die Beobachtung von Werner, der die d-Tubocurarin-Lähmung des Dünndarmes mit Prostigmin durchbrechen konnte. Wir konnten diesen Antagonismus — wie oben gezeigt — mit muskulär erregenden Stoffen feststellen. wofür allerdings die Deutung von Werner keine Gültigkeit besitzt.

Barium in einer Konzentration von 10^{-4} bis 2×10^{-4} durchbrach die Curarin-Lähmung ebenfalls. Der Antagonismus wurde bis zur 20fachen lähmenden d-Tubocurarin-Dosis geprüft. Dabei bestand wiederum jene charakteristische Bariumperistaltik.

Die Versuche mit den obigen Stoffen führten also zu dem Ergebnis, daß die angewandten peristaltiklähmenden Konzentrationen nicht zu einer absoluten „ganglionären" Lähmung geführt hatten. Die Unterbrechung des Peristaltikreflexbogens an der Verbindung zwischen afferenten und efferenten Schenkeln durch „Ganglienblocker" würde eine Durchbrechbarkeit dieser Lähmung mit Hilfe von muskulär angreifenden Stoffen ausgeschlossen haben, da sie die Impulse zu einer koordinierten Tätigkeit der beiden Muskelschichten nicht wieder hätten herstellen können.

Eine Ausnahmestellung nahm hierbei aber das Nicotin ein, weil entgegen den Ergebnissen mit den übrigen Stoffen bei ihm Histamin unwirksam blieb. Doch vermochte auch hier Barium die Peristaltiklähmung zu durchbrechen. Aber nicht allein gegenüber vorwiegend muskulären Erregern spielte sich ein durchbrechender Antagonismus ab, sondern auch mit Doryl erzielten wir gleiche Ergebnisse. Es ließ sich also über eine Stimulierung parasympathischer Receptoren der gelähmte Peristaltikreflex nach Tonussteigerung wieder in Gang bringen.

In weiteren Versuchsreihen verglichen wir diese Ergebnisse mit denen, wo durch andere pharmakologische Stoffgruppen ohne bekannten ganglionären Angriffspunkt eine Peristaltiklähmung herbeigeführt werden kann.

5. Chinin, Sympatol, Atropin.

Chinin in einer Konzentration ab 5×10^{-5} lähmte, wie eingangs beschrieben, den Peristaltikreflex. Doryl in der Dosierung von 5×10^{-8} vermochte diese Lähmung voll zu durchbrechen. Sympatol war in seiner peristaltiklähmenden Konzentration (2×10^{-5}) ebenfalls durch Doryl antagonisierbar. Es kam unter Doryl 10^{-7} wieder zu einer Dauerperistaltik. Auch Histamin in der üblichen Dosierung durchbrach die Sympatollähmung, wobei es zu einer Gruppenperistaltik kam (siehe Abb. 5).

Atropin, das ab $4—5 \times 10^{-8}$ die Darmperistaltik sicher lähmte, ließ sich durch Histamin, selbst in stärksten Konzentrationen, nicht in seiner Wirkung aufheben. Bis zur Konzentration

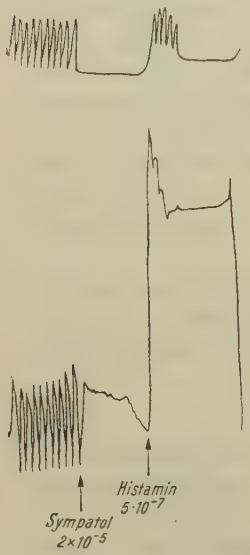


Abb. 5.

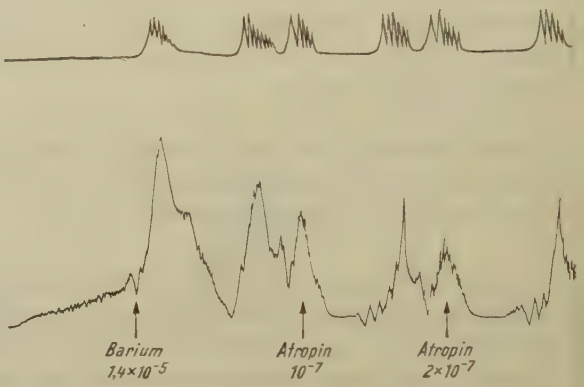


Abb. 6.

Abb. 5. Sympatol-Histamin-Antagonismus. Versuchsbedingungen wie bei Abb. 1. Histamin durchbricht Peristaltiklähmung nach Sympatol.

Abb. 6. Atropin-Barium-Antagonismus. Versuchsbedingungen wie bei Abb. 1. Lähmung durch Vorbehandlung mit Atropin ($5 \cdot 10^{-8}$). Steigende Bariumdosen bis $1.4 \cdot 10^{-5}$ durchbrechen die Lähmung. Die 4fache lähmende Atropindosis bleibt danach wirkungslos.

von 6×10^{-7} blieb es wirkungslos, während andererseits bereits geringe Bariumdosen ($1{,}4 \times 10^{-5}$) am atropingelähmten Darm eine Bariumperistaltik hervorriefen, die sich durch die 6fache Atropindosis nicht mehr unterdrücken ließ (siehe Abb. 6).

Alle in den vorstehenden Teilen im einzelnen besprochenen Beobachtungen sind zusammenfassend in Tab. 2 unter dem Gesichtspunkt der Durchbrechbarkeit einer Peristaltiklähmung zusammengefaßt. Hier sind nur die Erfolge durch knappe Zeichen angegeben. Die Dosierungen sind in zahlreichen Versuchen variiert worden, so daß die Angaben nicht nur auf Ergebnissen mit den untersten Grenzbereichen beruhen, wo auch unzureichende Lähmung und unzureichende antagonistische Wirkung eine Fehldeutung ermöglichen könnte.

Tabelle 2. *Durchbrechender Antagonismus.*

	Durchbrechender Antagonismus gegenüber						
	Nicotin	Pendiomid	C_6	Curarin	Chinin	Sympatol	Atropin
Doryl	+	+	+		+	+	
Barium	+	+		+			+
Histamin	∅	+	+	+		+	∅

Zeichenerklärung. + bedeutet Durchbrechung der Lähmung möglich.
∅ bedeutet Durchbrechung der Lähmung nicht möglich.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Das isolierte Darmstück stellt in seiner peristaltischen Funktion ein einfaches Modell eines Reflexbogens dar. Bei seinem anatomischen Bau ist es unmöglich, einzelne Angriffspunkte örtlich einer pharmakologischen Wirkung auszusetzen. Es kann der Peristaltik als derjenigen motorischen Organfunktion, die wohl sicher unter ganglionärer Steuerung verläuft, nicht angesehen werden, an welcher Stelle ein Stoff hauptsächlich wirksam wurde, da gleichsinnige Beeinflussungen von verschiedenen Stellen des Systems wirksam werden können. Andererseits mag es als durchaus begründet erscheinen, unter den Versuchsbedingungen nach Magnus einen überwiegenden muskelautomatischen Anteil den registrierten Pendelbewegungen der Längsmuskulatur zuzuschreiben. Daraus ergibt sich die Frage, welches Substrat man den hier registrierten Effekten zugrundelegen darf. Denn es handelt sich ja bei den muskulären Pendelbewegungen um eine von der Peristaltik zwar nicht völlig unabhängige, aber doch wohl verschiedene Teilfunktion des Organs, die nicht an die gleichen auslösenden Bedingungen gebunden ist wie die eigentliche koordinierte Peristaltik. Vermutlich spielen hier nervöse Impulse auch eine, aber doch wohl geringere Rolle. Dies geht allein daraus hervor, daß z. B. Nicotinkonzentrationen in einer mehrfachen ganglionär lähmenden Dosis die Muskelautomatie am Magnus-Präparat nicht zu unterdrücken vermögen (eigene unveröffentlichte Versuche).

Zunächst ergab sich bei den Versuchen, daß es möglich ist, Peristaltiklähmungen durch „ganglienblockende" Pharmaka mit Hilfe muskulär erregender Substanzen zu durchbrechen. Dies zeigen eindeutig die Histaminversuche. Pendiomid-, C_6- und d-Tubocurarin-Lähmungen erwiesen sich als antagonistisch beeinflußbar, und zwar zum Teil bis zur vielfachen festgelegten Grenzkonzentration. Lediglich Nicotin ließ sich durch Histamin nicht antagonisieren.

Gegenüber anderen noch geprüften Lähmern wiesen die sogenannten „Ganglienblocker" im Verhalten des Muskeltonus unter der Lähmung weiter gemeinsame Eigenschaften auf. Sie erzeugten alle nach ihrem Zusatz eine vorübergehende Kontraktur der Längsmuskulatur, die danach

in eine Erschlaffung überging. Nicotin allein vermochte dieselbe Reaktion auch an der Ringmuskulatur zu erzeugen. Als Erklärungsmöglichkeit käme in Betracht, daß es sich hierbei um eine kurze, der „ganglionären" Lähmung vorausgehende Erregung handelt. Hierfür spräche auch, daß dieselbe Reaktion bei den anderen Lähmern (Chinin, Sympatol, Atropin) ausbleibt. Da ihre Histamindurchbrechbarkeit gegen eine eindeutige ganglionäre Wirkung beim Lähmungsmechanismus spricht, muß man bei diesem Phänomen auch an einen muskulären Mechanismus denken. Hierfür sprächen auch Versuche von Lach, der am nicotingelähmten Magnus-Darm noch Kontrakturen nach Zusatz verschiedener Curarine und C 10 erhielt.

Beim Histamin ergab sich zunächst die Frage, ob es sich bei seiner Wirkung um einen vorwiegenden „Antagonismus am gleichen Substrat", der auf einer Verdrängung oder auf einer dynamischen Gegenwirkung beruhen könnte, oder aber um einen mehr „symptomatischen Antagonismus", d. h. einer Wirkungsausschaltung durch Angriff an anderer Stelle, handeln könnte. Sicherlich waren die angewandten Konzentrationen beim Pendiomid, C_6 und d-Tubocurarin nicht so hoch, daß eine volle ganglionäre Lähmung erreicht wurde. So mußte das Sistieren der Peristaltik unter ihnen auf einer Beteiligung von Hemmechanismen an anderen Substraten beruhen. Die Angriffspunkte des Histamins liegen an der Muskulatur und damit an den Endpunkten der afferenten und efferenten Reflexbahn. Indem es den Muskeltonus anhebt, sind die Voraussetzungen zu verstärktem Dehnungsreiz gegeben, um bei noch funktionsfähigem ganglionärem Apparat die Peristaltiklähmung zu durchbrechen. Mit dieser Vorstellung vermag man ebenso der Muskeltonusbeobachtung unter der Lähmung eine Deutung zu geben. Indem es über eine Kontraktur zu einer Erschlaffung kam, die durch Histamin aufgehoben wurde, und damit zu der Voraussetzung einer erneuten Peristaltik führte, handelte es sich bei den geprüften Dosenbeziehungen bis zu einem gewissen Grade sicherlich um einen echten „Substratantagonismus", d. h. durch C_6, Pendiomid und d-Tubocurarin war es unter muskulärer Wirkungsbeteiligung zu einer Peristaltiklähmung gekommen. Daß es sich hierbei aber nur zum Teil um einen Substratantagonismus gehandelt haben kann, wird bei der Besprechung der übrigen Antagonisten zum Ausdruck kommen.

In anderer Weise stellt sich unter dieser Betrachtungsart die Nicotinwirkung bei der Peristaltiklähmung dar. Histamin blieb wirkungslos und neben der Längsmuskulatur reagierte auch die Ringmuskelschicht während der Lähmung mit einer vorübergehenden Kontraktur. Demnach war unter der lähmenden Konzentration ein solches Maß an Hemmung an einer Stelle im System erreicht worden, daß die Verstärkung der Dehnungsreize durch Histamin nicht ausreichte, um die erloschene Peri-

staltik wieder in Gang zu bringen. Diese Bedingungen erfüllt Nicotin durch seine echte ganglienlähmende Wirkung, der eine Erregung vorausging, die sich diesmal an beiden Muskellagen darstellte. Inwieweit bei dieser Dosierung muskuläre Nicotinwirkungen mit wirksam werden, kann nach den negativen Histaminversuchen nicht ermessen werden.

Zur Erhärtung dieser Vorstellungen benutzten wir weiterhin einen Peristaltiklähmer, der über adrenergische muskuläre Hemmung wirksam wird, das Sympatol. Dementsprechend ging die Lähmung mit einem sofortigen Absinken des Muskeltonus parallel. Die gute Antagonisierbarkeit dieser Lähmung durch das den abgesunkenen Muskeltonus hebende Histamin charakterisiert den sich abspielenden „Substratantagonismus" und bildet somit eine Parallele zu einem Teil der vorigen Versuche.

Überträgt man nunmehr diese Interpretation auf die Atropin-Histamin-Versuche, bei der es zu keiner Durchbrechung der Lähmung kam, so entspricht das Ergebnis durchaus den Erwartungen, weil die durch das Atropin von ihren nervösen Impulsen getrennte Muskulatur (bei leichtem Tonusabfall!) allein durch die muskuläre Histaminwirkung nicht wieder in Aktion gesetzt werden kann. Histamin verhält sich also gegenüber der Peristaltiklähmung durch Atropin weder funktionell noch substratmäßig antagonistisch.

Mit zwei weiteren Stoffen, die wir zu unseren antagonistischen Versuchen benutzten, dem Barium und dem Doryl, haben wir andere Wirkungsmechanismen zu erwarten.

Dem Barium wurde am isolierten Darm bisher eine vorwiegend muskuläre Wirkung zugeschrieben, und es diente am Magnus-Darm als Teststoff für muskulär spasmolytische Wirkungen. Neuerdings blieb diese Auffassung nicht unwidersprochen. Feldberg u. Mitarb. erkannten ihm am Meerschweinchen- und Kaninchenileum ganglionär erregende Wirkungen zu, weil es sich u. a. in seiner Wirkung durch C_6 herabsetzen ließ, während Histamin und Acetylcholin unbeeinflußt blieben. Edlund u. Lohi bestätigten diese Angaben, doch glauben sie für das Rattenileum auf Grund ihrer Befunde eine rein muskuläre Wirkung annehmen zu müssen. Mit Doryl hatten wir einen die parasympathischen Receptoren des muskulären Erfolgsorgans erregenden Stoff gewählt.

Da es gelang, die Nicotinlähmung durch Barium zu antagonisieren, muß bei ihm eine vom Histamin verschiedene Wirkung angenommen werden. Damit könnte es die Feldbergsche Auffassung der ganglionären Bariumwirkung am Meerschweinchendarm bekräftigen, denn wir hatten ja auf Grund der Nicotin-Histamin-Versuche geschlossen, daß Nicotin vorwiegend über eine ganglionäre Lähmung die Peristaltik zum Stillstand bringt.

Die Durchbrechbarkeit der Atropinlähmung durch Barium läßt noch an die bekannte Tatsache denken, daß die Reizung des Parasympathicus im Tierversuch auch unter voller Atropinlähmung zu Peristaltikreaktionen führt. Man hat daher angenommen, daß am Darm die Erregungs-

übertragung nicht über Acetylcholin erfolgt. Vogt hat sich schon systematisch bemüht, diesen darmerregenden Stoff zu isolieren. Wenn man nun annimmt, daß Barium seine Erregungswirkung über eine Freisetzung dieses Stoffes ausüben würde, dann wäre verständlich, daß die Peristaltiklähmung durch Atropin mit Hilfe von Barium unterbrochen werden kann, weil Atropin ja gegenüber dem erwähnten hypothetischen Überträgerstoff wirkungslos ist.

Dennoch ergeben sich aus den Versuchen Einwände gegen eine ganglionäre Deutung der Bariumwirkungen. Einmal sind es die Beobachtungen der eigenartigen peristaltischen Koordinationsstörungen unter der Bariumwirkung, zum anderen der durchbrechende Barium-Antagonismus gegenüber der Atropinlähmung. Es muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, zu klären, ob nicht unter Barium vielleicht auch eine muskuläre Automatie ausgelöst werden könnte, die sich in der Koordinationsstörung der Peristaltik ausdrücken würde*.

Beim Doryl wäre ein doppelter Wirkungsmechanismus denkbar. Über die Erregung parasympathischer Receptoren kommt es nicht nur zu einer Verstärkung efferenter Impulse, sondern der damit verbundene Tonusanstieg der Muskulatur schafft auch die Voraussetzung zu einer Verstärkung afferenter Reize, indem die nach der Lähmung entstandene Muskelerschlaffung aufgehoben ist. So wirkt sich Doryl wahrscheinlich auf nervösem Wege über eine Verbesserung der muskulären Receptorimpulse aus, wobei es einen nicht völlig gelähmten ganglionären Apparat voraussetzt.

Zur Bekräftigung dieser Vorstellung bedienten wir uns einerseits des Chinins, das sich am Magnus-Darm bekanntlich durch eine starke muskulär spasmolytische Eigenschaft auszeichnet (Hoffmann u. Kempe). Daß allerdings beim Chinin in gewissen Konzentrationen auch eine ganglionäre Wirkungskomponente mit berücksichtigt werden muß, zeigten neuerdings Kewitz u. Reinert am durchströmten oberen Halsganglion der Katze. In den bei uns angewandten Konzentrationen dürfte jedoch die spasmolytische Wirkung im Vordergrund stehen, die sich auch durch Doryl voll aufheben ließ. Ebenso verliefen die Sympatol-Doryl-Versuche positiv. Hierbei handelte es sich in beiden Fällen wohl um einen symptomatischen Antagonismus, d. h. Lähmer und Erreger vermögen trotz verschiedener Angriffspunkte am Reflexbogen in gewissen Konzentrationsbereichen Wirkungen, die gegeneinander gerichtet sind, noch aufzuheben, was sich im vorliegenden Falle mit Ausschaltung des Peristaltikhemmmechanismus äußerte.

---

* Weitere orientierende Versuche am Straub-Viaud-Präparat zeigten, daß auch hier Barium am Meerschweinchendarm in vivo eine unkoordinierte Peristaltik hervorrief, die durch größte Atropindosen (10 mg/kg i. v.) nicht mehr zu unterdrücken war.

Nach den Histaminergebnissen ergab sich erwartungsgemäß auch ein durchbrechender Antagonismus gegenüber der Pendiomid- und C_6-Lähmung. Bei der Nicotinlähmung hatte sich jedoch gezeigt, daß infolge der starken ganglionären Wirkungskomponente eine rein muskuläre Tonusbeeinflussung nicht ausreichte. Hierzu tritt nun beim Doryl noch die Verstärkung efferenter parasympathischer Impulse mit dem Erfolg, daß sich die Nicotinlähmung nunmehr durch das Doryl als antagonisierbar erweist. Hieraus könnte geschlossen werden, daß unter der angewandten Nicotindosis noch keine absolute ganglionäre Lähmung bestanden haben konnte, und daß sich wahrscheinlich noch eine muskuläre Komponente, die sich ja ebenfalls durch das Doryl aufheben ließ, an dem Sistieren der Peristaltik unter Nicotin beteiligt hatte.

Somit können wir die Ergebnisse der Versuche zur Beantwortung unserer Fragestellung dahingehend zusammenfassen, daß in der Funktion der einzelnen an der Peristaltik beteiligten Elemente sehr enge Zusammenhänge bestehen. Diese Funktionszusammenhänge drücken sich darin aus, daß man bei an sich durchaus differenten Stoffen, wenn man sie in Konzentrationen anwendet, die durch eine soeben sichere Peristaltikhemmung charakterisiert sind, ihren Effekt nur mit großer Zurückhaltung der Wirkung auf einen allzu umschriebenen Substratteil zuschreiben darf. So zeigte sich hier an Hand der Antagonisierbarkeit von Peristaltiklähmern, daß keiner der angewandten Ganglienblocker in seiner Wirkung so spezifisch war, als daß er im Bereich seiner peristaltiklähmenden Konzentration nicht auch „unspezifische Nebenwirkungen" an anderen Stellen des Reflexbogens gehabt hätte. Ihre Bedeutung an der als solcher imponierenden Peristaltiklähmung ließ sich demaskieren, indem die Lähmungen durch muskuläre Antagonisten ausgeschaltet werden konnten. Bemerkenswert erscheint, daß Nicotin unter den Ganglienblockern noch am meisten spezifische Wirkungen entfaltete, aber doch zugleich wohl auch in geringem Maße muskulär wirksam war, wie Richter es für höhere Konzentrationen am Magnus-Präparat des Meerschweinchendarmes zeigte.

Zusammenfassung.

Es wurden die Ergebnisse einer Prüfung antagonistischer Fähigkeiten von peristaltiklähmenden und -erregenden Stoffen am isolierten Meerschweinchendünndarm (nach Trendelenburg) vorgelegt, die zur Klärung von Fragen des Angriffs an nervösen oder muskulären Elementen des Reflexbogens dienen sollen.

1. Es zeigte sich an Hand der Tonusveränderungen sowie der Antagonisierbarkeit durch Histamin, daß von den geprüften lähmenden Substanzen (Nicotin, Pendiomid, C_6, d-Tubocurarin, Sympatol und Atropin) nur Atropin und Nicotin in ihrer lähmenden Grenzkonzentration keine

muskulären Angriffspunkte bei der Peristaltiklähmung hatten, die für ihre Wirkung bedeutsam wären.

2. Barium vermochte jedoch die durch die beiden Stoffe hervorgerufene Peristaltiklähmung selbst in der vielfachen lähmenden Konzentration antagonistisch zu beeinflussen. Dies legt als Deutung des Ba-Wirkungsmechanismus die Anregung einer muskulären Automatie oder vielleicht das Freisetzen des von Vogt diskutierten atropinresistenten Überträgerstoffes nahe.

3. Die antagonistischen Fähigkeiten des Histamins und Doryls gegenüber der Peristaltiklähmung durch Pendiomid, C_6, d-Tubocurarin, Chinin und Sympatol weisen in diesem Zusammenhang auf die Bedeutung der glatten Muskulatur als reflexogenes Substrat, weil sich an den für sie typischen Tonusreaktionen sowohl der Charakter der Lähmung als auch die Art der antagonistischen Beeinflußbarkeit erkennen läßt.

Literatur.

Ambache: J. of Physiol. **110**, 164 (1949). — Baur: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **131**, 233 (1928). — Edlund u. Lohi: Experientia **8**, 156 (1952). — Feldberg and Lin: Brit. J. Pharmacol. **4**, 33 (1949). — J. of Physiol. **111**, 96 (1950). — Feldberg: J. of Physiol. **113**, 483 (1951). — Feyrter: Über die Pathologie der vegetat. nervösen Peripherie und ihrer ganglionären Regulationsstätten. Wien: Maudrich-Verlag 1951. — Hoffmann u. Kempe: Klin. Wschr. **29**, 349 (1951). — Kewitz u. Reinert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 547 (1952). — Lach: Diss. Göttingen 1952. — Magnus: Pflügers Arch. **102**, 123 (1904). — Richter: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 281 (1939). — Schaumann, Giovanni u. Jochum: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 460 (1952). — Schaumann u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — Straub u. Ozaki: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **173**, 374 (1933). — Straub u. Viaud: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**, 1 (1933). — Trendelenburg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **81**, 55 (1917). — Vogt: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 1 (1949). — Werner: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **216**, 175 (1951).

Prof. Dr. L. Lendle,
Pharmakologisches Institut der Universität, Göttingen, Geiststraße 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 193—198 (1953).

Aus der Chirurgischen Univ.-Klinik Göttingen (Direktor: Prof. Dr. Hellner).

Untersuchungen der Verteilung, Resorption und Ausscheidung von etikettiertem Conteben.

I. Mitteilung.

Von

K. Hinrichs, H. Poppe und H. Steyer.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Oktober 1952.)

Seit der Einführung des Contebens in die Therapie der Tuberkulose hat es nicht an Versuchen gefehlt, den Wirkungsmechanismus dieser Substanz zu klären. Eine der Voraussetzungen hierzu ist die Kenntnis der Resorptions- und Ausscheidungsverhältnisse sowie des Stoffwechsels des Moleküls im Körper. Besonders interessant wird diese Fragestellung dadurch, daß das Conteben keineswegs ein einfaches Tuberculostaticum ist, sondern auch erhebliche Nebenwirkungen entfaltet, die in ihrer physiologischen Bedeutung für die antituberkulöse Wirkung sowie für den Organismus überhaupt bisher noch nicht klar erkannt sind. Die Arbeiten Heilmeyers und seiner Schule deuten auf einen Angriffspunkt des Contebens im regulatorischen Geschehen des Nebennierenrinden-Hypophysen-Mechanismus hin. Diese Meinung erfährt ihre bedeutsamste Stütze durch eine dem Conteben eigene Wirkung auf die allgemeine Entzündungsbereitschaft des Organismus.

Wir haben daher bei der Untersuchung der Stoffwechselverhältnisse des 4-Acetylaminobenzaldehyd-thiosemicarbazon-Moleküls (Conteben), dessen Schwefelatom durch ein radioaktives S^{35}-Isotop ersetzt wurde der Nebenniere besondere Beachtung gewidmet. Hier soll nur über diese Befunde berichtet werden. Weitere Ergebnisse bleiben späteren Publikationen vorbehalten.

Die bisher von anderen Autoren ausgearbeiteten Verfahren des Conteben-Nachweises, die erst kürzlich von Wernitz und Quecke[2] einer ausführlichen, kritischen Betrachtung unterzogen wurden, haben erhebliche Nachteile. Sie erfassen immer nur einzelne aromatische Gruppen oder andere Teilstücke des Conteben-Moleküls, nie aber den ganzen Molekülkomplex. Leider war es auch bisher nie möglich, mit diesen Methoden Bestimmungen in Organen oder Gewebsextrakten durchzuführen.

Eine der in der Literatur angegebenen Nachweismethoden[1] erfaßt in Analogie zu dem Diazotierungsverfahren zum Nachweis der Sulfonamide lediglich die aromatische Aminogruppe, die im Falle des Contebens zuvor hydrolysiert werden muß. Mit diesem Verfahren kann man also keine Aussage über den Verbleib des Contebenmoleküls selbst machen. Es werden nur Aminophenylgruppen bestimmt, die zwar

aus dem Conteben, aber auch aus anderen Abbauprodukten des Körpers stammen können. Zudem ist die Methode mit erheblichen Fehlermöglichkeiten belastet, was unter anderem die stark voneinander differierenden Befunde der verschiedenen Verfasser beweisen[1, 2].

Mit einem anderen Verfahren soll die Thiosemicarbazongruppe[2, 7] durch ihre Fähigkeit zur Bildung von Kupfer-Komplexsalzen erfaßt werden. Die Empfindlichkeit dieser Methode ist nicht sehr groß, so daß sie für Untersuchungen in Organen und Gewebsflüssigkeiten a priori ausfällt. Zudem sind auch hier erhebliche Fehlerquellen durch andere komplex-bildende Substanzen gegeben, die immer im Urin vorkommen. Insbesondere fällt diese Methode aus, wenn Conteben, parenteral in Antipyrin gelöst, appliziert wird, da Antipyrin selbst Kupfer-Komplexe bildet. Aber auch oral gegebenes, reines Conteben ergibt keine sicheren Werte, da die Kupfersulfatfällung im Urin von der Salzkonzentration des Urins abhängig ist.

Die von Spinks[4] angegebene Methode des Nachweises im Ultraviolettspektrographen wurde mangels geeigneter Geräte in Deutschland bisher nicht kritisch untersucht. Mit einem modifizierten Verfahren konnte nachgewiesen werden[6], daß erst nach 0,6 g Conteben per os ein Blutspiegel von 0,25 mg% auftritt, was mit der klinischen Vorstellung von der tuberkulostatisch wirksamen Konzentration nicht in Einklang steht.

Mit dem biologischen Testverfahren[2] können nach bisherigen Untersuchungen sichere quantitative Aussagen nicht gemacht werden.

Auf Grund dieser Ungenauigkeiten und der immer noch fehlenden Möglichkeit, exakte Aussagen über den Verbleib und den Abbau des Contebens im Organismus zu machen, sind wir dazu übergegangen, markierte Contebenmoleküle zu verwenden, die an die Stelle des S im 4-Aminobenzaldehydthiosemicarbazon ein Isotop (S^{35}) (Tab. 1) eingebaut

$$CH_3CO \cdot NH\text{–}C_6H_4\text{–}CH = N \cdot NHCS \cdot NH_2$$

wurde. Das Präparat wurde von Herrn Behnisch aus den Bayer-Laboratorien uns zu Verfügung gestellt.

Zu den Versuchen wurden ausgewachsene Meerschweinchen von mindestens 300 g Gewicht verwendet. Das Conteben wurde in Mengen von 50—200 mg in verschiedenen Versuchsreihen verabfolgt. Die Applikation erfolgte durch eine Magensonde; das Conteben wurde dazu in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. In einzelnen Fällen haben wir, um die Resorptionsverhältnisse zu studieren, das Präparat in Substanz in die freie Bauchhöhle eingebracht. Alle Tiere wurden in wechselnden Zeitabständen nach der Applikation getötet und die Organe auf einem von H. R. Kanitz vorgeschlagenen Wege aufgearbeitet:

Alkalische Verseifung von 1—2 g Organ oder Gewebe mit 60% KOH im Nickeltiegel; danach erfolgt eine Soda-Salpeterschmelze (1 g Na_2CO_3 + KNO_3 ([Sicc.]). Die silbergraue Schmelze kann quantitativ durch Kochen in H_2O aus dem Tiegel entfernt werden, um eine Zerstörung des Nickeltiegels durch die spätere Zugabe von konz. Salzsäure zu verhindern.

Ein Erhitzen der Lösung (p_H 4—5!) bis kurz vor dem Siedepunkt läßt bei Zugabe von einigen ml Bariumchlorid den Schwefel aus Bariumsulfat im Laufe der nächsten 12 Std vollständig ausfallen. Bei dem genannten Verfahren erhält man nach der Zugabe von 5 ml 10% Ba Cl_2-Lösung. Niederschläge, die im Mittel bei 2,8 mg/cm² liegen! Die Art des Vorgehens ist bei der Gewinnung solcher Niederschläge von ausschlaggebender Bedeutung; die Fehlermöglichkeiten sind von Tawer und Schmidt ausführlich diskutiert worden[10].

Der Gebrauch von Benzidin-Dihydrochlorid als Fällungsmittel des Schwefels ergibt nach unseren Erfahrungen keine Vorteile, insbesondere lassen sich *wesentlich* größere Filterniederschläge damit nicht erreichen! Die Benutzung eines Kieselgurfilters (Schleicher & Schüll Nr. 287) ist sehr zu empfehlen!

Die Aktivitätsbestimmungen der Filter wurden mit einem GEIGER-MÜLLER-Strahlungsmeßgerät FH 44 (Hersteller Friesecke und Höpfner) vorgenommen.

Auflösungsvermögen:

$$\frac{N_w}{N_a} = \frac{\text{wirkl. Imp. Zahl/min.}}{\text{abgeles. Imp. Zahl/min.}} = \frac{1}{1}$$

für die in praxi gezählten Imp./min und einem bleiabgeschirmten Glockenzählrohr Typ (FHZ 12 Durchmesser 25 mm von 1,6 mg/cm²). Bei allen Messungen ist die Konstanz der Zählrohrcharakteristik durch einen vorgeschalteten Löschkreis garantiert. Zählrohrspannungen für alle Messungen 1300 V (= 100 V über Zählwerkeinsatzspannung). Die Aktivitätsbestimmungen der Filter geschahen in allen Fällen

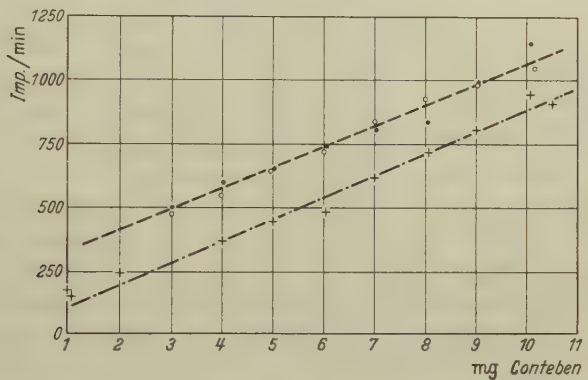


Abb. 1. Spez. Aktivität. +++ Conteben als S auf Filter gefällt. ooo Conteben auf Glasschale ••• Aktivität unter Berücksichtigung der Schichtabsorption.

unter gleichen geometrischen Verhältnissen zum Zählrohr. Schichtdicke des Filterniederschlags 2,8 mg/cm². Absorption durch das Glimmerfenster des Glockenzählrohrs bei einer für Radioschwefel max. Energie. Eβ max. 0,167 MeV = 16%[11]. Absorption durch die Schichtdicke des Niederschlags bei 3 mg/cm² = 38%. Meßzeit für jede Aktivitätsbestimmung 10 min unter vorheriger und nachfolgender Kontrolle des Nulleffektes bei eingeschobenem Filterschieber. Statistische Schwankung: F = 0,5—1,7% für alle Meßimpulse. Der zeitliche Aktivitätsabfall des S_{35} (HWZ = 87,1 d) wurde berücksichtigt.

Die anfangs angefertigten Vergleichskurven bei der die Aktivitäten von reinem Conteben auf einer Glasschale zu solchen Filtern in Beziehung gesetzt wurden, wie sie durch den eben genannten Arbeitsgang zu erhalten waren, ergaben außerordentlich geringe Verluste (Abb. 1). Es wurden dann die Organe von 20 Tieren, die 24 Std nach einer Gabe von 100 mg Conteben per os getötet wurden, nach der oben angegebenen Methode aufgearbeitet. Dabei ergaben sich die auf Abb. 2 festgelegten Werte für die einzelnen untersuchten Organe. Bei später angestellten Versuchen mit insgesamt 60 Tieren zeigte sich, daß die Relationen der

einzelnen Organaktivitäten in gewissem Umfang gewahrt bleiben, unabhängig davon, in welchem Zeitraum nach der Applikation die Tiere getötet wurden. Die absoluten Werte der gemessenen Aktivitäten wiesen aus, daß von 24 Std post appl. an die Aktivitäten nur gering zunahmen.

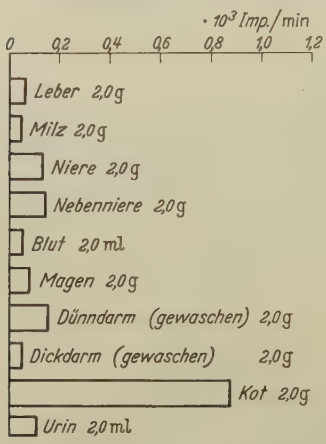


Abb. 2. Organaktivität nach einmaliger Gabe von 100 mg Conteben.

Auffällig war, daß dieses besonders für die Nebennierenaktivität zutraf. Es schien so, als ob dieses Organ eine Sonderstellung einnahm. Wir haben daher eine Versuchsreihe von 30 Tieren getestet, die täglich 50 mg markiertes Conteben peroral zugeführt bekamen. Es wurden an jedem Tag 2 der Tiere getötet. Vom 10. Tag ab wurde kein Conteben mehr gegeben. Die gemessenen Aktivitäten in der Nebenniere wurden bis zum Ende des Versuchs nach 15 Tagen graphisch dargestellt (Abb. 3). Es zeigt sich, daß eine eindeutige Anreicherung der Aktivität in der Nebenniere bei fortlaufender Medikation stattfindet.

Bei den von uns durchgeführten Versuchen handelt es sich leider auch nicht um einen spezifischen Contebennachweis, denn lediglich das radioaktive S-Atom wird vom Geiger-Zählrohr nachgewiesen. Wir sind aber in der Lage, von der in den Proben nachgewiesenen Radioaktivität auszusagen,

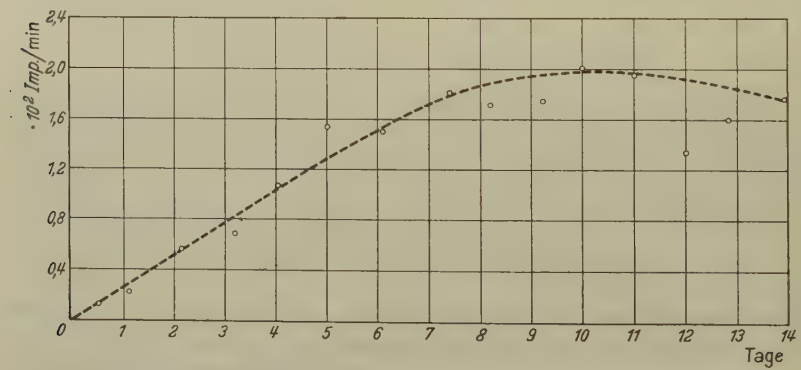


Abb. 3. Nebennierenaktivität nach peroraler Gabe von tgl. 100 mg Conteben.

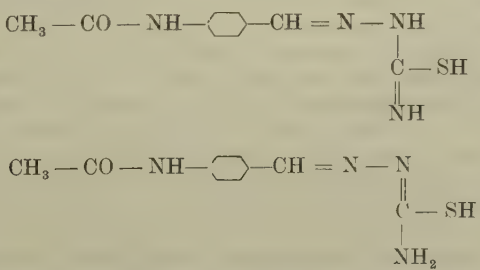
daß diese nur durch das Contebenmolekül in den Organismus eingebracht sein kann. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß am Contebenmolekül natürlich viele Abbaumöglichkeiten mit Hilfe körpereigener Fermentsysteme möglich sind, wird es doch unwahrscheinlich, daß der Schwefel isoliert aus dem Molekül herausgelöst werden kann und sich infolge

komplexer Bindungen in der kupfer- und lipoidreichen Nebenniere ansammelt. In diesem Fall müßte in der Leber, die in viel größerem Maße Kupferkomplexe bildet, eine höhere Aktivität gefunden werden. Ebenso kann die Anreicherung nicht durch eine Lipoidlöslichkeit erklärt werden, da diese dem intakten Conteben nicht zukommt. Wenn aber eine solche für einzelne Teilstücke oder Abbauprodukte des Moleküls bestehen sollte, müßte im Gehirn und anderen lipoidreichen Organen die gleiche Aktivitätsanreicherung stattfinden.

Weitaus wahrscheinlicher ist dann die Hypothese, einer Aufspaltung des Moleküls in das aromatische Amin einerseits und den Cacbazidrest andererseits. Infolge der großen Affinität der freien NH_2-Gruppe des Carbazidrestes zu Keto-Gruppen wäre die Anreicherung in der Nebenniere durch Bindung an Ketogruppen der Nebennierenrinde in gewisser Weise erklärbar. Dabei muß jedoch auf die Tatsache der außerordentlichen Stabilität der Doppelbindung zwischen dem aromatischen Ring und dem Carbazid-Rest verwiesen werden. In vitro ist ein Aufsprengen dieser Doppelbindung nur durch Kochen in stark konz. Salzsäure möglich. Andererseits ist aber durchaus denkbar, daß der Organismus über uns unbekannte Fermentsysteme und Abbaumöglichkeiten verfügt, um eine solche Trennung zustande zu bringen.

Eine Anreicherung des *intakten* Conteben-Moleküls in der Nebenniere erscheint auf Grund der chemischen Gegebenheiten unwahrscheinlich.

Die oben angestellten Überlegungen gewinnen jedoch eine völlig andere Richtung, wenn dem Conteben-Molekül eine andere als die bisher immer angegebene Konstitutionsformel zukommt (vgl. Formel I mit Formel II und III). Neuerdings wird von seiten des Physikers nämlich auf die größere Wahrscheinlichkeit eines Vorliegens des Schwefels in Form der SH-Gruppe im Molekülverband hingewiesen. Ein gewisser Teil unserer — einer späteren Publikation vorbehaltenen — experimentellen Befunde unterstreicht sehr die letztgenannte Möglichkeit. Damit ergeben sich jedoch völlig neue Aussichten, deren Klärung noch eingehender Untersuchungen bedarf (Abb. 2).



oder

Nach den bisher vorliegenden Untersuchungsbefunden an 72 Meerschweinchen und 234 Organbestimmungen glauben wir, annehmen zu

können, daß nur ein geringer Teil des peroral verabfolgten Contebens resorbiert wird. Die größere Menge wird unresorbiert wieder ausgeschieden.

Eine intermediäre Resorption des ganzen Moleküls im größeren Ausmaß und Wiederausscheidung durch den Darm kann insofern ausgeschaltet werden, als Aktivitätsbestimmungen von Darmwand und Kot in verschiedenen Zeitabständen nach der Applikation keine nennenswerten Ergebnisse brachten. Außerdem müßten in diesem Fall zu irgend einem Zeitpunkt größere Organaktivitäten auf Kosten der Kotaktivität auftreten.

Die hohen Ausscheidungsquoten im Urin, die andere Autoren fanden[1, 2, 5, 6, 7], können wir, zumindest für die ersten 24 Std nach der Applikation, nicht bestätigen (Abb. 2). Somit müssen die bisherigen Nachweisverfahren der Thiosemicarbazone im Urin sich im wesentlichen auf den Nachweis von Spaltprodukten stützen.

Wenn die Untersuchungen Heilmeyers und A. die Unversehrtheit des Moleküls für eine direkte tuberculostatische Wirkung fordern, kann aufgespaltenen Teilstücken eine solche direkte Wirkung nicht mehr zugeschrieben werden. Die auffallende Anreicherung in der Nebenniere, die nach unseren Untersuchungsergebnissen wahrscheinlich durch ein Abbauprodukt des Contebens bedingt ist, legt die Vermutung einer *unspezifischen Wirkung auf den Organismus* nahe. Gleichzeitig erhebt sich damit die Frage, ob in Hinsicht auf die vielen widersprechenden Urteile in der Literatur eine direkte Wirkung auf den Tuberkelbacillus überhaupt das Wesentliche der Conteben-Therapie ist. Die bisherigen tierexperimentellen Untersuchungen mit einem radioaktiv etikettierten Conteben bekräftigen vielmehr die Ansicht, daß uns mit dem Medikament ein hochwirksames, aber unspezifisches Therapeuticum mit einem Wirkungsmechanismus über die Nebenniere in die Hand gegeben ist.

Literatur.

[1] Heilmeyer, I. u. L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 312; **210**, 424 (1950). — [2] Wernitz u. Quecke: Z. klin. Med. **149**, 94 (1952). — [3] Hoggarth, E., A. R. Marin, H. E. Storey and E. H. Young: Brit. J. Pharmacol. and Chem. **4**, 248 (1949). — [4] Spinks, A.: Brit. J. Pharmacol. and Chem. **4**, 245 (1949). — [5] Heilmeyer, I. u. L.: Klin. Wschr. **27**, 790 (1949). — [6] Wernitz, W.: Klin. Wschr. **28**, 200 (1950). — [7] Wollenberg, O.: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 26, 899. — [8] Sturm u. Wernitz: Dtsch. med. Wschr. **1951**, 21, 705. — [9] Geks: Klin. Wschr. **1950**, 609. — Z. Hyg. **130**, 622 (1950); **131**, 345 (1950). — [10] Tawer-Schmidt: J. of Biol. Chem. **130**, 6733 (1939). — [11] Isotopes, March 1951, Isotopes Div. US. Atom. Energ. Com. Oak Ridge (Tennessee).

Dr. K. Hinrichs, Chirurgische Universitäts-Klinik Göttingen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 199—214 (1953).

Aus dem Pathologischen Institut der Akademie für medizinische Forschung und Fortbildung der Justus-Liebig-Hochschule Gießen
(Direktor: Prof. Dr. med. Gg. Herzog).

Beitrag zum Problem des Fett- und Lipoidstoffwechsels in Gewebekulturen*.

Von
W. Knoth.

Mit 5 Textabbildungen.

Eigene Untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung der Plasmalreaktion, über die anderenorts schon kurz berichtet wurde, ließen vermuten, daß Teilvorgänge des zellulären Fett- und Lipoidstoffwechsels in vitro erklärbar seien. Weitere Beobachtungen in dieser Richtung geben Veranlassung, über unsere Untersuchungen zusammenfassend zu berichten, da wir glauben, daß die gewonnenen Ergebnisse auch allgemein pathologisch-anatomisches Interesse haben dürften.

Einleitung.

Es ist bekannt, daß im Cytoplasma der in vitro lebenden Zellen kleine Fettropfen häufiger vorkommen, als wir es von der normalen Histologie gewöhnt sind. Sieht man nun in diesen Befunden den Ausdruck nichtoptimaler Kulturbedingungen oder Zellschädigung, so wird man aber von einer Reihe eingehender Arbeiten dahingehend belehrt, daß eine gewisse Zellverfettung in vitro nicht a priori etwas Degeneratives zu sein braucht (Haszler, Lambert u. Hanes, Lauche, Lubarsch).

In sehr instruktiven Untersuchungen hat E. Mayer an sog. verfetteten Kulturen normale und an Zahl nicht verminderte Mitosen ablaufen sehen, wobei er gleichzeitig zur weiteren Sicherung seiner Beobachtungen die Wachstumsareale auch meßtechnisch erfaßte und hier ebenfalls kein verändertes Verhalten konstatieren konnte. Die Abbildung einer Fibroplastenkultur des „Carrelstammes" bei Demuth läßt eine stärkere „Granulierung" erkennen und auch hier wird man nicht ohne weiteres von degenerativen Erscheinungen sprechen können. Krontowski schreibt, daß Fettropfen sowohl an frischen intensiv wachsenden, als auch an den „unsterblichen" Fibroplastenkulturen Carrels nachweisbar sind.

Ohne Zweifel ist eine übermäßige und abnorme Fettbeladung der Zellen in vitro wie in vivo unter besonderen Umständen als Ausdruck eines geschädigten Stoffwechsels zu deuten und es wird mit Recht der Sauerstoffmangel z. B. bei der peripheren Verfettung der Stauungsleber

* Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

oder bei der „Tigerung" des Herzmuskels als ursächliches Moment angeschuldigt, so wie dies auch neuerdings durch Hilwig u. Schmitz für Fibroplasten in vitro durch Zugabe von Berberin nachgewiesen wurde.

Es muß jedoch betont werden, daß aus allen Arbeiten, die sich eingehender mit der Frage der sog. Verfettung und des Zellfettstoffwechsels beschäftigen, hervorgeht, daß man nur mit aller Vorsicht von dem Grade der Verfettung auf die Zellvitalität zu schließen vermag. „Die vieldeutige Bezeichnung ‚Verfettung' kann ebensogut noch gesundhafter Mehrleistung als krankhaftem Verfall entsprechen" (Rössle 1949). Der Anwendung des Begriffes der „fettigen Degeneration" steht jedenfalls nach wie vor die Schwierigkeit gegenüber, daß in färberischer Hinsicht die reversible von der irreversiblen Verfettung nicht sicher getrennt werden kann.

Zur Klärung der hier angedeuteten Probleme kann vor allem die Erweiterung unserer Kenntnisse vom cellulären Fett- und Lipoidstoffwechsel beitragen.

Literatur.

Nach Krontowski u. Poleff verhalten sich die lichtbrechenden, tröpfchenförmigen oder granulären Einschlüsse in den Zellen der Gewebekultur gegenüber Färbemethoden von Fischler, Dietrich u. Ciaccio negativ, färben sich mit Sudan III und Nilblausulfat rot, schwärzen sich mit Osmiumsäure und lösen sich in Xylol und Chloroform. Diese Autoren kommen zu dem Schluß, daß es sich im wesentlichen um Neutralfette handeln müßte und sprechen von einer fettigen Metamorphose im Sinne Virchows. Bei der Autolyse schließlich konnten sie ein Umschlagen der Lipoidnachweismethoden in positive Ergebnisse konstatieren und nennen diesen Vorgang, auch nach Untersuchungen unter Einfluß von Phosphor und Ol. Pulegii eine Lipoidmetamorphose. Choplins Untersuchungen führten ebenfalls zu dem Ergebnis, daß der Hauptanteil der im Cytoplasma in Erscheinung tretenden Tröpfchen den Neutralfetten zuzurechnen sei. Dagegen konnte Mitsuhashi in 3 Tage alten Epithelkulturen von Rana esculenta Fettsubstanzen nachweisen, die sich mit Nilblausulfat blau, mit Sudan rot und nach Smith-Dietrich schwärzlich färben, keine Doppelbrechung zeigen und von ihm als phosphorhaltige Lipoide gedeutet werden. Auch Rumjantezw spricht von phosphorhaltigen Lipoiden nach histochemischen Untersuchungen an den Granula der in vitro wachsenden Fibroplasten. Rix kommt nach Untersuchungen an embryonalen Herzgewebskulturen vom Huhn, der Maus und dem Kaninchen zu folgenden Ergebnissen: In den Kulturen von embryonalen Hühnerherzen steht am Anfang die Glycerinesterverfettung im Vordergrund, die mit zunehmenden Alter von einer Lipoidanreicherung verdrängt wird. Fettsäuren fehlten oder entzogen sich dem Nachweis durch Maskierung mit anderen reaktionsfähigen Stoffen. Gewebekulturen des embryonalen Mäuseherzens zeigten im Cytoplasma ihrer wachsenden Zellen früh einen höheren Lipoidgehalt, der im Alter von stärkeren Neutralfettanteilen untermischt war. Zellen des explantierten Kaninchenherzens war von vornherein ein stärkerer Neutralfettreichtum eigen, wobei die Lipoide und Cholesterin und dessen Ester kaum in Erscheinung traten. Erwähnt man noch Szantroch, der nach den eingehenden Untersuchungen Rixs zu dem Ergebnis kommt, daß die Fettropfen, welche in den Zellen der Kulturen auftreten, hauptsächlich aus Neutralfetten bestehen, so muß man Rix beipflichten, wenn er sagt, daß von einer einheitlichen Auffassung nicht die Rede sein kann.

Einstimmiger sind dagegen die Anschauungen über die Herkunft der in den Zellen der Gewebekulturen nachweisbaren Fette und Lipoide. „Der Verfettungsvorgang beruht auf der sog. Fettinfiltration" (Gg. Herzog). Die grundelegenden Untersuchungen Lauches haben überzeugend dargetan, daß die Fettaufnahme aus dem Nährmedium die führende Rolle spielen muß. Auch Ludwig, Foot, Goldberg, Krontowski, Nordmann u. a. neigen eindeutig zu dieser Auffassung. Lediglich Szantroch glaubt bewiesen zu haben, daß ein Teil des nachweisbaren Fettes von den Zellen aus dem Mutterstück mitgebracht wird.

Eigene Untersuchungen.

Material und Methodik.

Zu unseren Untersuchungen züchteten wir Milzkulturen von erwachsenen Meerschweinchen, die den schon früher hervorgehobenen Vorteil bieten, daß man gleichzeitig mehrere Zellarten im Bereich einer Kultur, namentlich auch emigrierte und wachsende Zellen beobachten kann. Es wurden Kulturen jeder Entwicklungszeit den Färbeverfahren unterworfen, wobei wir namentlich im Anfang der Kultivierung stündliche Zeitspannen wählten. An 2840 Einzelkulturen kamen folgende Färbemethoden bzw. histochemische Reaktionen zur Anwendung: Hämatoxylin-Eosin, Scharlachrot, Sudan III, Osmiumtetroxyd, Nilblausulfat, Lipodfärbung nach Smith-Dietrich, Lipoidfärbung nach Ciaccio, Plasmalreaktion nach Feulgen-Voit, Einschlußfärbungen in einem Thionin-Weinsteinsäure- und in einem Kresylechtviolett-Weinsteinsäuregemisch nach Feyrter.

Den besonderen Verhältnissen in vitro Rechnung tragend werden im folgenden das angepflanzte Mutterstück, das Nährmedium und die emigrierten bzw. ausgewachsenen Zellen in ihrem Verhalten gegenüber den angewandten Untersuchungs-Methoden gesondert berücksichtigt.

Ergebnisse.

Die Milz, ein Organ, das nach seiner besonderen Stellung im Organismus sehr wechselnden Bedingungen unterworfen ist, die vorwiegend vom Blut her bestimmt werden, hat hinsichtlich ihres Fett- und Lipoidgehaltes eingehende Bearbeitung erfahren (s. Lubarsch). Das Verhalten bei Anwendung der Plasmalreaktion ist für die Rattenmilz von Hornykiewytsch u. Seydl neuerdings beschrieben worden. Gegenüber anderen Meerschweinchenorganen, wie z. B. Gehirn und Herzmuskulatur ist der Plasmalogengehalt der Milz gering. Die Follikel sind histochemisch frei, nur die Pulpastränge schwach positiv.

Das Nährmedium, bestehend aus Meerschweinchenplasma und Hühnerembryonalextrakt, ergibt färberisch lediglich mit Scharlachrot ein auswertbares Ergebnis. Man findet selbst bei Tieren, die 24 Std gehungert haben, dichtliegende feinste rotgefärbte Tröpfchen, die bei Betrachtung mit bloßem Auge dem Nährmedium einen hauchartigen rötlichen Farbton geben. Alle anderen Färbemethoden bzw. histochemischen Reaktionen konnten am Nährmedium keinen Farbeffekt erzielen. Auch die Plasmalreaktion fiel in qualitativer Hinsicht hier negativ aus. Doch ließen sich sowohl im Plasma als auch im Embryonalextrakt quantitativ bestimmbare Acetalphosphatidmengen (Plasmalogen) erfassen, die nach Kenntnis

der Versuche von Feulgen und Mitarbeiter an Hühnerembryonen eine besondere Aufmerksamkeit beanspruchen durften. Der Acetalphosphatidgehalt des Meerschweinchenplasmas war mit 2 mg% nicht wesentlich von den Zahlenwerten, die man im menschlichen Plasma findet, unterschieden. Im Extrakt konnte bei Verwendung von 7 Tage alten Embryonen 1,56 mg% gemessen werden, während Extrakte von 9 Tage alten Hühnchen einen Plasmalogengehalt von 2,69—3,20 mg% ergaben[1].

Diese Befunde bestätigen die Untersuchungsergebnisse von Feulgen, Feller u. Andresen, daß durch Bebrütung befruchteter Hühnereier eine Zunahme des Acetalphosphatidgehaltes erreicht wird, der sich in unserem Falle schon deutlich innerhalb von 2 Tagen bemerkbar machte. Für die Technik der Nährmediumbereitung sind diese Ergebnisse insofern von Bedeutung, da sie einen Einblick in mögliche Verschiebungen gestatten, die Fraktionen des späteren Embryonalextraktes unter der Dauer der Bebrütung erfahren. Die Vorschläge Gaillards, zum Extrakt von älteren Embryonen eine größere Menge von Verdünnungsmitteln zu geben, sind zur Konstanterhaltung der Konzentrationen auch hinsichtlich des Acetalphosphatidgehaltes berechtigt.

Die Aufklärung der „biologischen Beziehungen zwischen den Esterphosphatiden und den Acetalphosphatiden (Plamalogen)" durch Feulgen und Mitarbeiter wirft darüber hinaus bedeutsame Probleme des organismischen Wachstums auf. Der schon oben genannte Versuch wurde von Feulgen auch an Sojabohnen vor und nach der Keimung ausgeführt. Überraschenderweise konnte hier ebenfalls während des Keimungsprozesses eine Zunahme des Acetalphosphatidgehaltes gemessen werden.

Es lag uns daran, die Frage zu klären, ob auch im Extrakt von verschieden alten Hühnerembryonen unter der Bebrütung der Acetalphosphatidgehalt eine Änderung erleiden würde. Zu diesen Versuchen verwandten wir Extrakte von 7 und 9 Tage alten Embryonen, wie sie routinemäßig in der Gewebezüchtung gebraucht werden, und setzten sie nach Abfüllung kleiner, für die quantitative Bestimmung ausreichender Mengen unter sterilen Kautelen 9—10 Tage einer Brutschranktemperatur von 38,2° und 39° C aus. Im gleichen Brutschrank wurden zu dieser Zeit sowohl die Bruteier als auch die Gewebekulturen aufbewahrt. In den nachstehenden Abbildungen sind die Ergebnisse graphisch dargestellt, wie sie nach der Methode von Feulgen, Boguth u. Andresen ermittelt wurden. Alle aufgetragenen Werte sind durch Doppelbestimmungen gewonnen. Am Kurvenverlauf ist zu sehen, daß die Plasmalogenwerte während der ersten 6 Tage nur wenig absinken. Danach ist die Abnahme sowohl bei der 1. als auch bei der 2. Versuchs-

[1] Herrn Professor Dr. R. Feulgen sind wir für wertvolle Anregungen und Frl. G. Andresen für die Durchführung der quantitativen Acetalphosphatidbestimmungen sehr zu Dank verpflichtet.

serie deutlich (s. Abb. 1). In einer weiteren Versuchsreihe kamen wiederum 2 Serien vom gleichen Ausgangsmaterial zur quantitativen Auswertung, von denen eine im Brutschrank und die andere im Eisschrank, beide über 10 Tage hinweg, aufbewahrt wurden. Das Entscheidende des Ergebnisses dieser Untersuchungsreihe ist das relative Konstantbleiben des Acetalphosphatidspiegels im Embryonalextrakt der Eisschrankserie (s. Abb. 2). Die Forderung, den Extrakt auf Eis zu stellen, besteht im Hinblick auf die Konstanterhaltung der Konzentrationen demnach völlig zu recht. Da im allgemeinen der Embryonalextrakt wöchentlich neu bereitet wird, dürfte die sehr geringe Abnahmetendenz der Acetalphosphatidwerte über 10 Tage hinaus keine praktische Bedeutung haben. Die mit dem vorigen gemeinsam angesetzte Serie des Brutschrankes läßt eindeutig ein Absinken der Plasmalogenwerte erkennen, das sogar im Vergleich zu den früheren Versuchen schon am 3. Tag einsetzte.

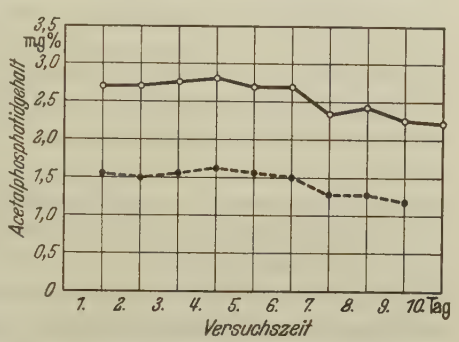


Abb. 1. Quantitative Acetalphosphatidbestimmungen in Extrakten von 7 Tage alten (— —) und 9 Tage alten (———) Hühnerembryonen unter Einwirkung von Brutschranktemperaturen.

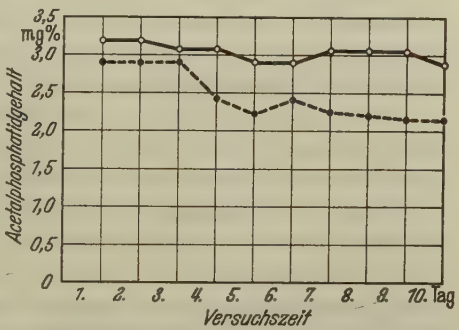


Abb. 2. Quantitative Acetalphosphatidbestimmungen im Extrakt von 9 Tage alten Hühnerembryonen bei Aufbewahrung im Brutschrank (- —) und im Eisschrank (———).

Die von Feulgen und Mitarbeiter sowohl an befruchteten Hühnereiern, als auch an Sojabohnen nachgewiesene Zunahme des Plasmalogengehaltes des wachsenden Organismus ist demnach eine Leistung des Organismus selbst. Nach Zerstörung seiner Strukturen, wie sie bei der Extraktbereitung vorgenommen wird, bleibt die Vermehrung der Acetalphosphatide unter der Bebrütung aus. Das Absinken der Plasmalogenwerte unter der Einwirkung der Brutschranktemperatur kann vorerst biochemisch nicht exakt begründet werden, ein fermentativer Abbau wäre möglich[1].

[1] Hornykiewytsch ließ Röntgenstrahlen auf menschliches Serum mit einer Dosis von 1000 r einwirken und konnte dabei eine Zunahme der Acetalphosphatide nachweisen. Eine Erklärung dieser interessanten Erscheinung läßt sich vorerst nicht geben. Mit einer reinen Wärmewirkung dürfte sie wahrscheinlich nichts zu tun haben.

Die Auswertung unserer Versuchsergebnisse berechtigt zu folgenden Feststellungen:

1. Der Embryonalextrakt enthält geringe Mengen Acetalphosphatide.

2. Der Acetalphosphatidgehalt im Extrakt steigt mit dem Alter der Embryonen an.

3. Die Brutschranktemperatur vermag im Embryonalextrakt keine Erhöhung der Acetalphosphatidwerte zu bewirken.

4. Die Werte sinken dagegen vom 3. bzw. 6. Tag an deutlich ab.

5. Im Eisschrank aufbewahrter Embryonalextrakt hält zumindest innerhalb einer Woche seinen Acetalphosphatidspiegel weitgehendst konstant.

Im Hinblick auf die anderenorts beschriebene starke Anreicherung des Cytoplasmas der in vitro wachsenden Milzfibroplasten mit Acetalphosphatiden haben uns die vorgenannten Versuche davon überzeugt, daß im angesetzten Nährmedium der Kulturen unter Einwirkung der Brutschrankwärme keine Zunahme des Plasmalogens möglich ist, sondern im Gegenteil ein Zurückgehen um quantitativ faßbare Mengen stattfindet und daß wir zur Erklärung des starken Ausfalls der Plasmalreaktion unsere Aufmerksamkeit den Stoffwechseleigenschaften dieser Zellen selbst zuwenden müssen.

Die Zellen der hier in Rede stehenden Milzkulturen werden im allgemeinen in Lymphocyten, Makrophagen und Fibroplasten unterteilt. Die in den ersten Stunden auswandernden Lymphocyten verhielten sich gegenüber allen angewandten Färbemethoden negativ.

Makrophagische Elemente, die nach etwa 16—20 Std vom Mutterstück aus ins Nährmedium vordringen, lassen von Beginn an feine granuläre Einschlüsse im Cytoplasma erkennen, die vorzugsweise um den Kern herum gelagert sind. Diese Granula waren sowohl sudano- als auch osmiophil, färbten sich mit Nilblausulfat blau und mit der Smith-Dietrich-Methode schwarz bis schwarzblau. Nach Anwendung der Plasmalreaktion nach Feulgen-Voit ließ sich eine schwache violettrote Farbreaktion in unmittelbarer Nähe des Zellkerns erreichen, die den oft leicht bohnenförmigen Kernen einseitig den Eindellungen anlag. Die plasmal-positive Zone war gleichmäßig violettrot, setzte sich nicht scharf gegenüber dem negativen Grundplasma ab und ließ in sich keine geformten Bestandteile erkennen. Während sudanophile „Tröpfchen" auch in den Pseudopodien nachzuweisen waren, fanden wir diese stets plasmalnegativ. Im ganzen gesehen muß der Acetalphosphatidgehalt der Makrophagen als gering bezeichnet werden.

Die Emigration der makrophagischen Zellen läßt mit dem 3. oder 4. Kultivierungstag nach. Die ausgewanderten Zellen phagocytieren reichlich die feinsten vorher erwähnten sudanophilen Tröpfchen des

Nährmediums. In dieser Zeit beginnt das Wachstum der Fibroplasten. Die sudonophilen Einschlüsse im Cytoplasma der Makrophagen sind jetzt stark vermehrt. Die in der Regel nunmehr abgerundeten Zellen geben bei Anwendung von Nilblausulfat vorwiegend rosarote, stellenweise auch noch zart violettrote Farbeffekte. Die Plasmalreaktion fällt meistens negativ aus. Die Färbung nach Smith-Dietrich gelingt in der zu Anfang und auf der Höhe der Emigration beschriebenen schwarzblauen Tönung nicht, sondern ist verwaschen und im Farbton mehr grau als schwarz.

Die Besprechung der färberischen und histochemischen Ergebnisse an den nach der 2. Passage am 4. Tag der Züchtung auswachsenden Fibroplasten kann sich auf gewisse Besonderheiten beschränken. Denn, wie wir schon anderenorts betont haben, ist das Verhalten eben ausgewachsener, junger Fibroplasten gegenüber Nilblausulfat, Osmiumsäure, Scharlachrot, Smith-Dietrich und Ciaccio qualitativ gleichartig den Befunden an Makrophagen während der lebhaftesten Emigration. Unter musterhaften Verhältnissen ließen sich auch weiterhin bei 6, 8 und 10 Tage alten Kulturen mit Nilblausulfat blaue, seltener violettblaue Granula im perinucleären Bereich der Fibroplasten nachweisen. Die Smith-Dietrich-Färbung ergab im Rahmen ihrer zu erwartenden Farbtönungen eine schwarz-schwarzblaue Anfärbung der cytoplasmatischen Einschlüsse. Die schon vom 4. Tag an sicher inaktiven, abgerundeten Makrophagen waren bei der Nilblausulfatfärbung vollgestopft mit rosafarbenen Kügelchen. Dieses Umschlagen der Nilblausulfat-Metachromasie konnte an Fibroplasten nur dann beobachtet werden, wenn die Kulturen schlecht genährt wurden, unter Einwirkung höherer Brutschranktemperaturen standen oder infiziert waren. Bei so geschädigten Kulturen ging die Plasmalreaktion nicht mehr an und die Smith-Dietrich-Färbung gab ein negatives Ergebnis.

Die von Ciaccio angegebene Lipoidfärbung mit Vorchromieren und Lösen der nicht chromierten „Neutralfette" gab uns keine verwertbaren Resultate. Nach Kaufmann u. Lehmann soll sie nur zwischen ungesättigten (Ciaccio-positiven) und gesättigten (Ciaccio-negativen) Fettsubstanzen unterscheiden lassen. Sowohl Makrophagen als auch Fibroplasten zeigten bei dieser Methode orangerote, granuläre Einlagerungen in geringer Menge zu jeder Beobachtungszeit.

Die Feyrtersche Thionin-Weinsteinsäure-Einschlußfärbung fiel an Makrophagen wie auch an Fibroplasten stets negativ aus. Auch eine rhodiochrome Körnelung war unseren Zellen nicht eigen. Wir bestätigen damit die Untersuchungen Feyrters, daß es sich bei den Acetalphosphatiden und den sog. chromotropen Lipoiden um verschiedene Stoffe handelt, wenn auch im Organismus unter normalen Verhältnissen beide zusammen vorkommen können (Feyrter u. Pischinger). Nach Feyrter sollen die chromotropen Lipoide mehr den Cerebrosiden nahestehen, ohne mit ihnen identisch zu sein, und die Farbreaktion durch Kohlehydratgruppen im Gesamtlipoidkomplex zustandekommen. Die Bedeutung der chromotropen

Lipoide für die Diagnostik neurogener Geschwülste wird im Verein mit weiteren Kriterien der gestaltlichen Beschaffenheit von Feyrter immer wieder betont. Am Bindegewebe soll jedenfalls keine chromotope Reaktion angehen. Die Untersuchungen mit einer 2. Einschlußfärberei nach Feyrter in einem Kresylechtviolett-Weinsteinsäure-Gemisch ergab ebenfalls kein positives Ergebnis.

Die Brauchbarkeit der verwandten Substanzen — Thionin und Kresylechtviolett — und die Technik der Einschlußfärberei wurden an Gefrierschnitten von formolfixierten Meerschweinchenorganen erprobt. Es konnte hier an den einzelnen

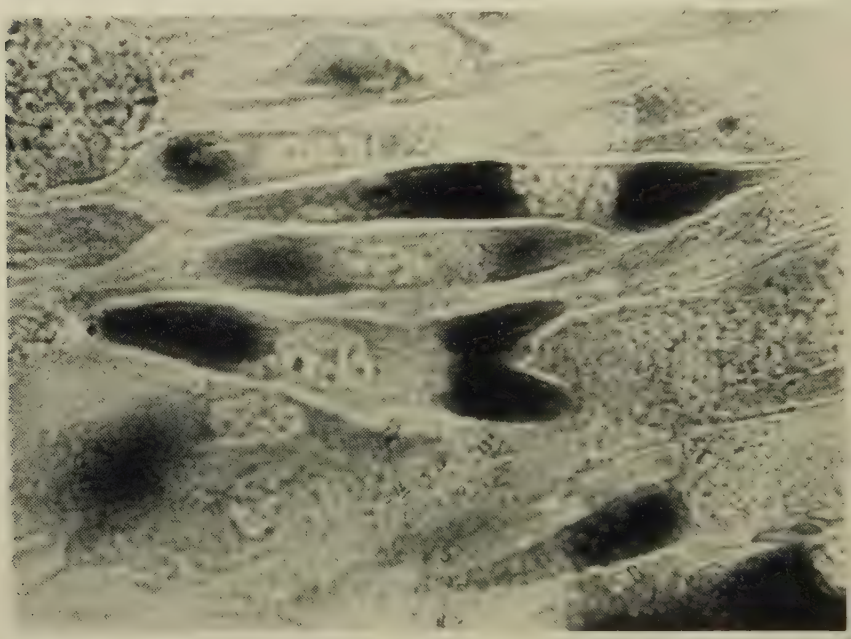


Abb. 3. 18 Tage alte Meerschweinchenmilzkultur, Fibroplasten, Plasmalreaktion nach Feulgen-Voit. Photo: Vergrößerung 850fach.

Organen wie Speicheldrüsen, Ösophagus und Trachea, Magen und Darm, Herzmuskulatur, Niere, Nebenniere und Pankreas, die von Feyrter an menschlichen Organen typische erythro- bzw. cyanochrome Metachromasie erzielt werden.

Der Acetalphosphatidgehalt des Cytoplasmas der hier untersuchten Milzfibroplasten ist von Anbeginn des Wachstums im Vergleich zu den makrophagischen Elementen größer. Mit dem Älterwerden der Kulturen ist eine gewisse Intensitätssteigerung der violettroten Farbreaktion zu beobachten. Zweifelsohne ist ein Zusammenhang mit den sich vermehrenden sudanophilen Cytoplasmagranula zu erkennen. Wie wir schon berichtet haben, ist das kernnahe Cytoplasma auffallend reich an Plasmalogen (s. Abb. 3). Die Feulgen-Voitsche Reaktion zeichnet dabei im Zelleib der spindeligen Fibroplasten an beiden Kernpolen zipflige, violettrot gefärbte, fast scharf begrenzte Bezirke ab, die gestaltlich etwas an die kernnahen Felder der Lipofuscinablagerungen

in den Herzmuskelfasern erinnern. Gegenüber diesem typischen Verhalten beobachteten wir neuerdings sehr vereinzelt Kulturen, wo die äußersten in das Nährmedium hineinragenden Zellfortsätze der Fibroplasten bei Anwendung der Plasmalreaktion als feine violettrote Fasern markiert waren (s. Abb. 4). Innerhalb der am häufigsten vorkommenden endoplasmatischen Plasmalogenzone waren vielfach bei starker Vergrößerung körnige und fädige Strukturen zu erkennen, die intensiver

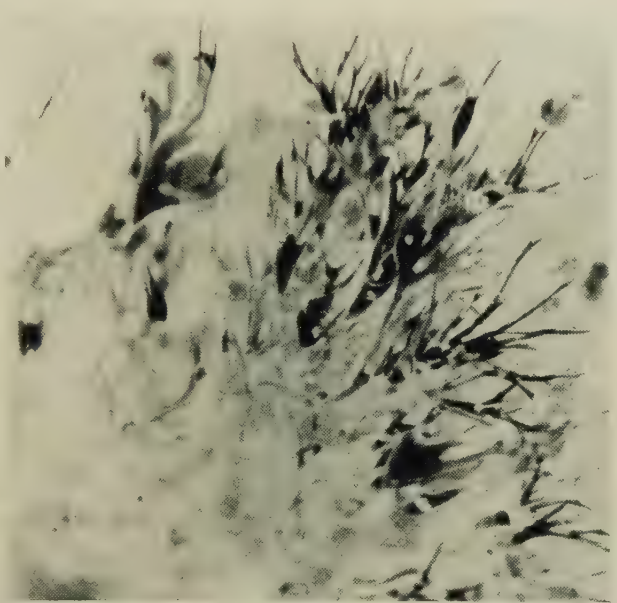


Abb. 4. 14 Tage alte Meerschweinchenmilzkultur, Fibroplasten, Plasmalreaktion nach Feulgen-Voit. Photo: Vergrößerung 120fach.

gefärbt sich aus der scheinbaren Homogenität der Farbzone abhoben. Bei Anwendung der Plasmalreaktion an älteren Kulturen mit größeren Wachstumshöfen blieben die dem Mutterstück naheliegenden Partien des neugebildeten Areals praktisch plasmalnegativ. Als Regel fanden wir, daß in diesen Fällen fast ausschließlich die Zellen der Peripherie eine positive Reaktion gaben (s. Abb. 5). Wir halten dieses Phänomen für besonders bedeutungsvoll, scheint es uns doch Beweise dafür zu bringen, daß einmal die Fette und Lipoide der in vitro wachsenden Zellen vorwiegend aus dem Nährmedium entnommen werden und zum andern, daß hier besondere Stoffwechselvorgänge ablaufen müssen.

Zur Frage der Herkunft der intrazellulären Fett- und Lipoidablagerungen haben wir hinsichtlich der Acetalphosphatide damit schon kurz Stellung genommen. Daß sich bei der Sudan III-Färbung bzw. Scharlachrot und nur bei diesen im Plasma des Nährmediums

feinste dicht liegende Tröpfchen fanden, obwohl das plasmaspendende Tier 24 Std vorher gehungert hatte, wurde schon erwähnt. Hinter den ins Nährmedium vordringenden Makrophagen und Fibroplasten, besonders wenn es zu Lücken- und Ringbildungen innerhalb der Emigrations- bzw. Wachstumszone gekommen war, konnte man regelmäßig eine hochgradige Verminderung dieser vorher beschriebenen feinsten, sudanophilen Tröpfchen beobachten (s. auch Lauche) und in den Zellen selbst in Abhängigkeit vom Fettgehalt des Nährmediums mehr oder weniger reichlich Fettröpfchen nachweisen. Mit der bei der Lücken- und Ringbildung oft statthabenden Verflüssigung des Plasmas ist dieses Phänomen jedenfalls nicht zu erklären.

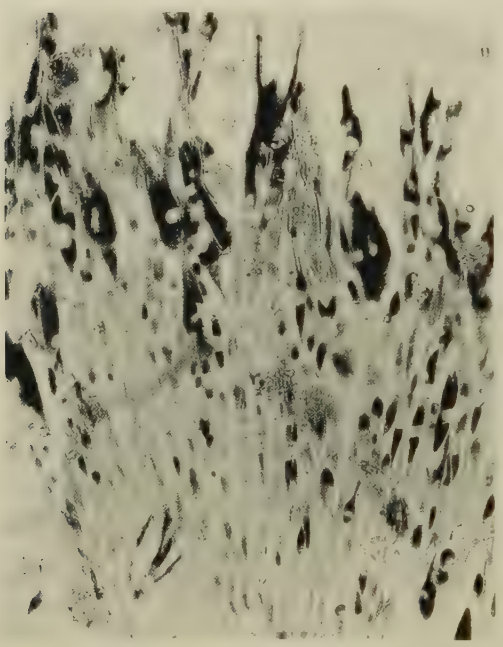


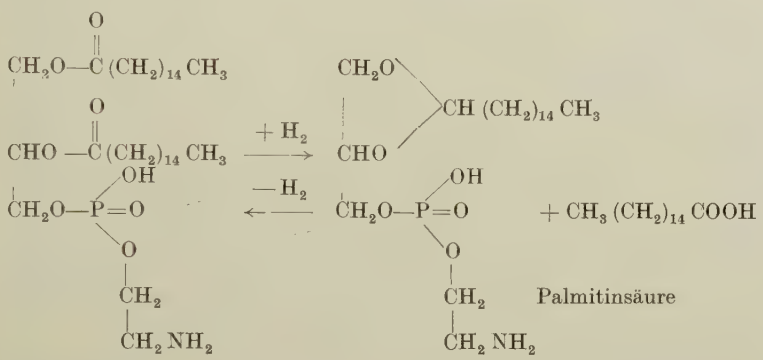
Abb. 5. 18 Tage alte Meerschweinchenmilzkultur, Fibroplasten, Plasmalreaktion nach Feulgen-Voit. Photo: Vergrößerung 130fach.

Besprechung der Ergebnisse.

Für die Deutung der Befunde bei Anwendung der Plasmalreaktion an älteren Fibroplastenkulturen ergeben sich folgende Überlegungen. Wenn man annimmt, daß der geringe Plasmalogengehalt des Nährmediums, der sich zudem noch unter der Brutschrankwärme vermindert nicht ausreicht, um mittels Infiltration die starke Ansammlung dieser lipoiden Aldehyde im Cytoplasma der Fibroplasten zu bewirken, so muß hier an die Besonderheiten des Stoffwechsels in vitro gedacht werden*. Die Zellen der Wachstumshofperipherie setzen sich lebhaft mit dem Nährmedium auseinander. Hier ist der Ort, wo die meisten Mitosen ablaufen. Während die Zellen der äußersten Zone sich in der Phase des Wachstumsstoffwechsels befinden, ist den weiter zurückliegenden bereits die Rolle eines „Stützapparates" zugefallen, was ein Zurückgehen der Stoffwechselaktivität bedeutet. Es muß angenommen werden, daß die

* Vgl. hierzu auch die Befunde, die an den makrophagischen Zellen erhoben wurden.

mit dem Nährmedium angebotenen Fette und Lipoide in die vordersten Zellen des Wachstumsareals hineingelangen und dort in zelleigene Stoffwechselvorgänge einbezogen werden. Neben der Infiltration geringer Menge präformierter Acetalphosphatide dringen sicher auch Esterphosphatide in das Cytoplasma ein. Die zuletzt genannten können aber durch einfache Reduktion in Acetalphosphatide (Plasmalogen) übergeführt werden, was den in vitro lebenden Zellen durch die besondere Einstellung ihres Stoffwechselchemismus, auf den wir noch näher eingehen werden, leicht gelingen dürfte. Die Verwandtschaft beider Phosphatide läßt sich am besten an Hand ihrer Strukturformeln erkennen.



Durch Mobilisierung und Herausnahme bzw. durch Übertragung und Einbau von 2 Wasserstoffatomen können sie ineinander übergehen. Mit Recht wird wohl in ihnen ein Redoxsystem vermutet, dessen Wirken bisher nicht ergründet werden konnte.

Wir haben bei der 1. Veröffentlichung unserer Befunde die Möglichkeit der Entstehung von Acetalphosphatiden aus Abbauprodukten des Kohlehydratstoffwechsels unter Zitierung von Feulgen und Klenk ebenfalls in Erwägung gezogen. Nach Lettré dürfen wir in dem Funktionsablauf der Glykolyse nicht nur den Abbau der Kohlehydrate bis zur Milchsäure annehmen, sondern müssen in ihr auch eine Quelle wichtiger Synthesen protoplasmatischer Baustoffe erkennen. Daraus ist zu schließen, daß höchstwahrscheinlich ein Teil des nachweisbaren Plasmalogens, abgesehen von der reinen Infiltration präformierter Substanzen und der Umwandlung angebotener Esterphosphatide, vom zelleigenen Stoffwechsel sich ableiten läßt. „Durch Acetalisierung mit Glycerin und Phosphorylierung und Einbeziehung des N-haltigen Bausteins entstehen dann die Acetalphosphatide“ (Feulgen). Es ist damit an die Möglichkeit des Bestehens einer „fettigen Transformation“ zu

denken, wenn sie auch gegenüber Infiltration und Phagocytose in vitro zurücktreten mag.

Wenn wir nachgewiesen haben, daß ein Teil der sogenannten tropfigen oder granulären Einlagerungen in fibroplastischen Zellen der Meerschweinchenmilz sich aus lipoidigen Substanzen, speziell Acetalphosphatiden zusammensetzt, so dürfen wir jedoch nicht übersehen, daß daneben mit anderen Färbeverfahren Fettstoffe erfaßt werden, deren Aufbau nach unseren heutigen Kenntnissen nichts mit Lipoiden gemein haben können. Dazu kommt, daß die Menge der mit Scharlachrot oder Sudan III färbbaren Protoplasmaeinschlüsse in Zellen älterer Kulturen über die mit der Plasmalreaktion erfaßbaren hinausgehen *kann*, was sich besonders bei Anwendung beider Färbemethoden — Plasmalreaktion und Scharlachrot — in zeitlich hintereinander geordneter Reihenfolge nachweisen läßt, wobei leider, färberisch gesehen, die Plasmalreaktion erlischt.

Nach Lennert und Weitzel ist die Rotfärbung durch Nilblausulfat für flüssige oder fast flüssige „Ester von gesättigten, ungesättigten, normalen und verzweigten Fettsäuren, flüssigen Glyceriden (gesättigte und ungesättigte), flüssige Wachse und Alkohole", charakteristisch, während die Blaufärbung nur den freien Fettsäuren eigen ist. Wenn wir an unserem Untersuchungsgut bei Anwendung der Nilblausulfat-Methode blau färbbare Einschlüsse im Cytoplasma bei regsten Emigrations- und Wachstumsvorgängen nachweisen konnten, so würde dieser Befund für das Vorliegen freier Fettsäuren sprechen und auf lebhafte Ab- und Umbauvorgänge schließen lassen. Es sei in diesem Zusammenhang an das Freiwerden von Fettsäuren bei der Umwandlung der Esterphosphatide zu Acetalphosphatiden erinnert. Orange- und rosarote Nilblausulfat-Metachromasie trat am Ende der Makrophagenwanderung und an Zellen geschädigter Fibroplastenkulturen ein. Die dabei erfaßten Fettsäureester, bzw. flüssigen Glyceride, sowohl in gesättigter als auch in ungesättigter Form, deuten auf das Erliegen der verarbeitenden Stoffwechselvorgänge hin.

Schlußfolgerungen.

Entgegen den Befunden von Krontowski und anderen müssen wir feststellen, daß nicht Neutralfette, sondern Fettsäuren und Lipoide (s. Mitsuhashi, Rumjantzew) unter musterhaften Verhältnissen mehr oder weniger reichlich in den Zellen der Milzkulturen nachweisbar sind. Die mit dem Nährmedium angebotenen Fettsubstanzen werden, wenn es sich um sogenannte Neutralfette handelt, im Cytoplasma der Makrophagen und Fibroplasten zu freien Fettsäuren abgebaut. Zu dieser Abbauleistung sind aber nur ungeschädigte Zellen fähig. Bei Einwirken von Schädlichkeiten, z. B. schlechte Ernährung, Infektion oder abnorme

Temperaturen, treten in den Zellen vorwiegend Glyceride, also höher, molekuläre Fette als Fettsäureester in gesättigter und ungesättigter Form auf.

Anders verhält sich die Zelle gegenüber den Lipoiden. In phasenhöchster proliferativer Tätigkeit erscheinen im Cytoplasma lipoidige Substanzen, von denen wir einen bedeutsamen Teil als Acetalphosphatide ansprechen konnten. Hieraus ist zu erkennen, daß offenbar diese lipoidigen Körper sich durch eine besondere Zellfreundlichkeit auszeichnen und dadurch nicht in die Abbauarbeit des Stoffwechsels einbezogen werden.

Die Bausteinanalyse der Zellorganellen, wie sie sich in Form der Mitochondrien und Mikrosomen repräsentieren, hat ergeben, daß annähernd 40% der Gesamtstruktur aus Phosphatiden und namentlich aus Plasmalen besteht (Claude, Graffi). Das dort Vorhandene wird auch die Erhaltung und wenn nötig Bildung gleichartiger Lipoide ermöglichen, so wie diese Vorgänge von den artspezifischen Proteinen im Zuge der Vermehrung gleichartigen Materials schon bekannt geworden ist.

In der Ausdeutung unserer Befunde läßt sich demnach der hohe Acetalphosphatidgehalt der in vitro wachsenden Zelle auch nach den Untersuchungen Graffis und Lapps letztlich als Zeichen einer gesteigerten Vermehrungstätigkeit ansehen.

Das Hinzutreten ungünstiger Kulturbedingungen oder autolytischer Vorgänge war mit einem Abnehmen bzw. Erlöschen der Lipoidfarbreaktionen verbunden. Zu diesem Verhalten führt Lapp hinsichtlich der Plasmalreaktion folgendes aus: „Die Tatsache, daß in katabiotischen Zellen der Acetalphosphatidgehalt vermindert ist, läßt daran denken, daß diese Stoffe bei der Synthese lipoproteider Strukturen eine Rolle spielen. Findet doch in der Carcinomzelle ein vermehrter Aufbau cytoplasmatischer Organzellen statt.“ Analog diesen Befunden bei autonom wachsenden und sich rasch vermehrenden bösartigen Zellen beobachteten wir an normalen in vitro wachsenden Zellen ebenfalls mit erhöhter Vermehrungstätigkeit eine stark positive Plasmalreaktion und sehen darin den Ausdruck gesteigerter, dem Wachstum dienender Stoffwechselvorgänge, die jedenfalls nichts mit Regression und Degeneration zu tun haben, andererseits aber auch nicht spezifisch für das maligne Geschwulstwachstum sein können (s. auch Letterer).

Zur Widerlegung der von Krontowski vertretenen Meinung über die Zunahme lipoidiger Stoffe in den Zellen überalterter Kulturen und in solchen, die der Autolyse anheimgefallen sind, sei zudem noch auf die exakten chemisch-analytischen Untersuchungen Rixs verwiesen.

Wie wir schon betont haben, reichen hin und wieder bei älteren Kulturen die sudanophilen Tröpfchen einwandfrei über die Plasmalogenzone hinaus. Zweifelsohne erkennen auch wir hier und in anderen, besonders gelagerten Fällen eine übermäßige Fettbeladung der Zellen in vitro an

und sind ebenfalls geneigt, dies mehr als Ballast für die Einzelzelle aufzufassen und hier nicht von normalen Verhältnissen zu sprechen. Dann aber waren stets die Plasmalreaktion schwach positiv oder völlig negativ, Nilblausulfatfärbung orangerot bis rosafarben, Smith-Dietrich grau oder in einem verwaschenen Schwarzgrau und Sudan III bzw. Scharlachrot intensiv positiv. Der Entstehungsmechanismus dieser Art von Verfettung dürfte in einer unzureichenden Leistung der Oxydo-Reduktionsvorgänge der Zellen zu suchen sein, die aber in vitro über das normalerweise verschobene Potential hinausgehen müssen und die eine zweckmäßige Verwertung der angebotenen Fette und Lipoide nicht vollständig gelingen lassen. Mit einer einzigen Fettfärbemethode ist aber hier keine wahre Beurteilung möglich, denn, wie wir gesehen haben, erfaßt man im allgemeinen den Fettgehalt der Zellen und Gewebe in allen Abstufungen von einer gesteigerten Aktivität über noch reversible Schäden bis zum Irreversiblen, Katabiotischen hin. „Das celluläre Auftreten von Fett unter pathologischen Verhältnissen ist nur ein Symptom, das in sich noch keine Erklärung bietet" (Dietrich 1910).

Im Hinblick auf die Übertragbarkeit der vorliegenden Befunde auf die Verhältnisse der speziellen pathologischen Histologie müssen wir jedoch noch gewisse Einschränkungen vortragen. Das Fehlen der Zirkulation, sowie das veränderte Milieu mit einem Nährmedium aus Plasma und Embryonalextrakt geben den Zellen nicht die gleiche Umgebung, wie in vivo. Diese Faktoren bewirken eine gewisse Änderung der Stoffwechsellage. Die nicht schlechteren, aber andersartigen Bedingungen in vitro lassen die Zellen auf spezialisierte Leistungen verzichten, die normalerweise mit hohem Sauerstoffverbrauch einhergehen. In diesem Verzichtenmüssen aber liegt etwas sehr Wesentliches für die Erklärung der Wachstumsphänomene in vitro. Durch die Explantation von Gewebe erwachsener Tiere werden die Zellen gezwungen, zum Wachstumsstoffwechsel überzugehen. Es sind damit zwar keine grundsätzlichen, aber doch bedeutsame graduelle Unterschiede in der Stoffwechselchemie gekennzeichnet. Die Glykolyse, die namentlich während der karyokinetischen Teilungsphase im Vordergrund stehen soll (Lettré), ist hier wie in Zellen maligner Tumoren vor allem zu beachten. Mit unvollständigen Oxydationen, reduzierenden chemisch-dynamischen Vorgängen und einer stärkeren Dehydraseaktivität wird auch der Fett- und Lipoidstoffwechsel der Gewebekulturen in besondere Bahnen gelenkt, zu dessen Aufklärung die vorliegende Arbeit einen Beitrag leisten sollte.

Zusammenfassung.

1. Es wird über Untersuchungen an Milzkulturen erwachsener Meerschweinchen mit histochemischen und färberischen Fett- und Lipoidnachweismethoden berichtet.

2. Im Cytoplasma morphologisch nicht geschädigter Makrophagen und Fibroplasten konnten freie Fettsäuren und Lipoide nachgewiesen werden.

3. Der Gehalt des Cytoplasmas an Acetalphosphatiden wird nach Anwendung der Plasmalreaktion bei den makrophagischen Elementen als gering und bei den Fibroplasten als reichlich angegeben.

4. Quantitative Plasmalogenbestimmungen im Extrakt von 9 Tage alten Hühnerembryonen ergaben Werte von 2,69 bis 3,20 mg%.

5. Im Brutschrank der Gewebekulturen aufbewahrter Embryonalextrakt zeigt innerhalb von 8 Tagen einen deutlichen Abfall seiner Acetalphosphatidwerte.

6. In Anerkennung des Vorganges der Fett- und Lipoidaufnahme aus dem Nährmedium wird hinsichtlich des hohen Acetalphosphatidgehaltes der Fibroplasten auch auf die Resorption von Esterphosphatiden und deren Umwandlung in Acetalphosphatide durch reduzierende Stoffwechselvorgänge aufmerksam gemacht.

7. Das Vorkommen einer fettigen Transformation wird ebenfalls diskutiert.

8. Aus dem histochemischen und färberischen Verhalten werden Rückschlüsse auf die Stoffwechselaktivität gezogen.

9. An geschädigten Kulturen kam es zum Erlöschen der Lipoidfarbreaktionen und zu einer Rotfärbung der cytoplasmatischen Einschlüsse nach Anwendung von Nilblausulfat.

10. Gegenüber der allein aus der Sudan III- bzw. Scharlachrot-Färbung diagnostizierten sogenannten fettigen Degeneration werden sowohl für die Beurteilung der Verhältnisse in vitro als auch in vivo erneut Einwände vorgebracht.

Literatur.

Choplin, N. G., u. A. L. Choplin: Arch. exper. Zellforschg **1**, 193 (1925). — Claude, A.: Science (Lancaster, Pa.) **91**, 77 (1940). — Demuth, F.: Züchtung v. Warmblütergewebe in vitro. München: Müller & Steinicke 1929. — Dietrich, A.: Erg. Path. **13**/II, 283 (1909). — Feulgen, R., P. Feller u. G. Andresen: Ber. Oberhess. Ges. Natur.-Heilk. Gießen **24**, 270 (1949). — Feulgen, R., A. Boguth u. G. Andresen: Z. physiol. Chem. **287**, 90 (1951). — Feyrter, F.: Mikroskopie, Wien **1**, 49 (1946). — Beitr. path. Anat. **101**, 181 (1949). — Feyrter, F., u. A. Pischinger: Wien. klin. Wschr. **55**, 463 (1942). — Foot, N. Ch.: Beitr. path. Anat. **53**, 446 (1912). — Gaillard, P. J.: Hormones Regulating Growth and Differentiation in Embryonic Explants. Paris: Hermann et Co. 1942. — Goldberg, M.: Beitr. path. Anat. **73**, 1 (1925). — Graffi, A.: Arch. exper. Zellforschg **25**, 127 (1944). — Arch. Geschwulstforschg **1**, 61 (1949). — Haszler, K.: Beitr. path. Anat. **92**, 101 (1933/34). — Herzog, Gg.: Verh. dtsch. path. Ges. 26. Tg. München 1931, S. 9. — Hilwig, J., u. H. Schmitz: Naturwiss. **38**, 336 (1951). — Hornykiewytsch, Th.: Strahlenther. **86**, 175 (1952). — Hornykiewytsch, Th., u. G. Seydl: Strahlenther. **88**, 129 (1952). — Kaufmann, C., u. E. Lehmann: Virchows Arch. **270**, 360 (1928). — Klenk, E.: Med. Klin. **1948**, 685. — Knoth, W.: Verh. dtsch. path.

Ges. 36. Tg. Freiburg 1952, Z. Krebsforschg. **58**, 674 (1952). — Krontowski, A.: Arch. exper. Zellforschg **6**, 111 (1928). — Krontowski, A., u. L. Poleff: Beitr. path. Anat. **58**, 407 (1914). — Lambert, R. A., u. F. M. Hanes: Virchows Arch. **211**, 89 (1913). — Lapp, H.: Verh. dtsch. path. Ges. 35. Tg. Hannover 1951, S. 145. — Lauche, A.: Verh. dtsch. path. Ges. 24. Tg. Wien 1929, S. 20. — Lennert, K., u. G. Weitzel: Z. Mikrosk. **61**, 20 (1952). — Letterer, E.: Verh. dtsch. path. Ges. 35. Tg. Hannover 1951, S. 151. — Lettré, H.: Verh. dtsch. path. Ges. 36. Tg. Freiburg 1952, Z. Krebsforschg. **58**, 621 (1952). — Lubarsch, O.: Verh. dtsch. path. Ges. 24. Tg. Wien 1929, S. 35. — Handb. path. Anat. Henke-Lubarsch **1/2**, 492 (1927). — Ludwig, F. W.: Arch. exper. Zellforschg **9**, 384 (1930). — Mayer, E.: Virchows Arch. **275**, 114 (1929). — Mitsuhashi, H.: Arch. exper. Zellforschg **2**, 273 (1926). — Nordmann, M.: Arch. exper. Zellforschg **8**, 371 (1929). — Rix, E.: Arch. exper. Zellforschg **13**, 517 (1933). — Rix, E.: Virchows Arch. **297**, 93 (1936). — Rössle, R.: Verh. dtsch. path. Ges. 33. Tg. Kiel 1949, S. 118. — Rumjantzew, A.: Arch. exper. Zellforschg **4**, 337 (1927). — Szantroch, Z.: Arch. exper. Zellforschg **13**, 600 (1933).

Dr. W. Knoth, Gießen,
Hautklinik der Akademie für medizinische Forschung und Fortbildung.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 215—221 (1953).

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. J. Kühnau).

Untersuchungen von Eiweißkörpern, besonders des Corneaepithels, und analgetischen, nicht ionenaktiven Netzmitteln.

I. Mitteilung*.

Von
V. Klingmüller und W. Schroeder.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Oktober 1952.)

Das Interesse, das die nicht-ionenaktiven Alkylpolyäthylenoxydderivate für die Lokalanalgesie — u. a. der Cornea — gewonnen haben, veranlaßte eine Untersuchung über die chemischen Beziehungen der Eiweißkörper des Corneaepithels zu den Netzmitteln.

Die von Schöller und Mitarbeitern[1] dargestellten und von Soehring und Mitarbeitern[2] auf ihre pharmakologischen Eigenschaften untersuchten Substanzen erwiesen sich als oberflächenanästhetisch am wirksamsten bei einem mittleren Molekulargewicht von 600 („Sch 600"). Klinisch wurden die Stoffe bisher von Hochrein u. Schleicher[3], Strack[4], Schulz und Mitarbeitern[5] und Lützenkirchen[6] untersucht. Der Dodecylalkohol wurde mit im Mittel 9 Molekülen Äthylenoxyd verknüpft. Durch fraktionierte Destillation wurden die Präparate R_1 bis R_4 mit einer Äthylenoxydkettenlänge von durchschnittlich 3,47; 7,13; 11,9 und 12,55 Molekülen erhalten. Pharmakologisch am wirksamsten erwiesen sich R_2 und R_3 (Soehring, Frahm, Mletzko[7]).

Um zu einer Vorstellung über ihre Wirkungsweise kommen zu können, wurde zunächst untersucht, ob physikalisch-chemische Veränderungen auftreten wie bei den Serumproteinen nach Verabreichung von Sulfonamiden[8], ob z. B. das Elektrophoresebild der Eiweißkörper des Corneaepithels beeinflußt wird. Vergleichende Untersuchungen am Serum sollten die Frage klären, wie diese Netzmittel überhaupt das Serumelektropherogramm beeinflussen.

Methodik.

Die Epithelzellschicht von 8—10 frischen Rinder- bzw. Kalbscorneae wurde mit einem Skalpell etwa bis zur Basalmembran abgeschabt, in einem kleinen Reagensglase mit der doppelten Menge Flüssigkeit mit einem rotierenden Glasstab 10 min gemischt, homogenisiert und extrahiert. Als Extraktionsmittel wurde

* Herrn Prof. Dr. E. Keeser zum 60. Geburtstage.

0,9%ige NaCl-Lösung bzw. eine 1%ige Polyäthylenoxydlösung in Wasser benutzt. Versuche mit Ringer- und 0,9%iger Kaliumchloridlösung ergaben keine bessere Extraktion, denn der N-Gehalt (Kjeldahl) in den Extrakten war im Bereiche der Streuung gleich. Die N-Bestimmung ergab im Corneaepithelbrei 16,6% Gesamteiweiß; davon waren nach Zentrifugieren des Homogenats 42,4% extrahierbar und wurden der Elektrophorese unterworfen; der unlösliche Rückstand enthielt 57,6% des Gesamt-N. 0,03 ml des Extraktes wurden auf einen 4 cm breiten Filtrierpapierstreifen (Whatman Nr. 1) mit einer Blutzuckerpipette aufgetragen und in einer feuchten Kammer nach Grassmann u. Hannig[9] (s. bei Bücher, Matzelt u. Pette[10]) der Papierelektrophorese unterworfen. Die Spannung betrug 110 Volt, die Elektrophoresedauer 15 Std, als Puffer wurde Veronal-Acetat-Puffer nach Michaelis[11] mit einem p_H von 8,55 und einer Ionenstärke $\mu = 0{,}17$ benutzt. Die Fraktionen wurden mit dem Natriumsalz des p-Nitranilinazo→1-Amino-8-naphthol-3,6-disulfosäure←azoanilin („Amidoschwarz 10 B", Bayer) gefärbt. Schließlich wurden am mit 1 Teil α-Brom-Naphthalin und 2 Teilen Paraffinum liquidum transparent gemachten Streifen im Elektrophotometer „Eppendorf" direkt Millimeter für Millimeter die Extinktion bei 546 mμ gemessen und die Werte graphisch dargestellt. Die Anwendung der Polyäthylenoxydderivate wurde modifiziert, indem statt zur Extraktionsflüssigkeit erst zum Puffer „Sch 600" in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt wurde. Diese Untersuchungen wurden mit solchen an normalen Seren verglichen, wobei ebenfalls verschiedene Konzentrationen „Sch 600" dem Puffer zugefügt wurden.

Ergebnisse.

1. Pherogramme ohne Netzmittel.

Wenn man aus dem Epithel der Rindercornea mit 0,9%iger Kochsalzlösung einen Eiweißextrakt herstellt und analysiert, erhält man ein viergipfliges Elektropherogramm (Abb. 1). Mischt man normales menschliches Serum (Abb. 2) dazu, dann läßt Gipfel 1 sich nach seinem elektrophoretischen Verhalten den Albuminen zuordnen. Gipfel 2 entspricht den α-Globulinen, Gipfel 3 ist weitaus am höchsten und entspricht den β-Globulinen, 4 den γ-Globulinen des menschlichen Serums (Abb. 3).

Es erhebt sich die Frage, ob man zu einer solchen Charakterisierung artfremdes Serum auf dem gleichen Papierstreifen wandern lassen darf: aber Versuche mit Rinderserum zeigten die gleichen Ergebnisse. Das homologe Serum braucht man bei der Papierelektrophorese nicht zu verwenden, die einzelnen Eiweißkörper stören sich offenbar auf Papier nicht. Aus der ähnlichen Lage im Pherogramm darf man natürlich ebensowenig wie bei den anderen Organproteinen auf eine Identität der Eiweißkörper des Blutes mit denen des Corneaepithels schließen. Das Bild (Abb. 3) ähnelt weitgehend dem Menschenleber-Elektropherogramm von Demling[12] und von Henning und Mitarbeitern[13]. Auch diese enthalten die gesamten Gewebseiweiße. Ein Tiselius-Elektropherogramm der Gesamtcornea findet sich bei Woodin[14]. Die Ähnlichkeit seiner Ergebnisse mit den unseren beweist die Brauchbarkeit der papierelektrophoretischen Methode. Die quantitative Verteilung der einzelnen Fraktionen nach Durchschneidung der Streifen im Farbminimum, Elution mit n/10-NaOH

und elektrophotometrischer Extinktionsmessung (Turba u. Enenkel[15]) ist die gleiche wie nach Planimetrierung der Diagramme (Mittelwerte): Frakt. 1: 2,2%; Frakt. 2: 26,7%; Frakt. 3: 57,2%; Frakt. 4: 13,9%.

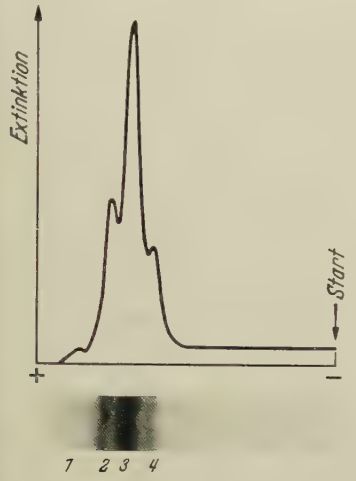


Abb. 1.

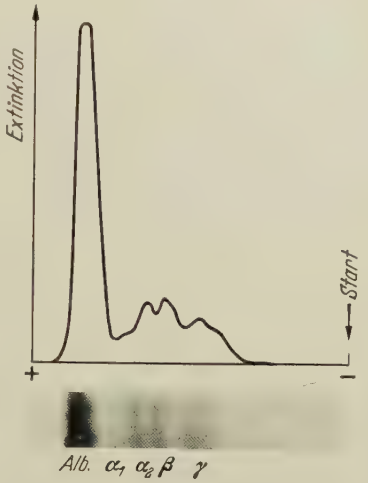


Abb. 2.

Abb. 1. Papierelektropherogramm, Corneaepithel, Rind. Extraktion mit 0,9% NaCl. — Versuchsanordnung: Veronal-Acetat-Puffer, $p_H = 8{,}55$, $\mu = 0{,}17$, 15 Std, 110 V, Zimmertemperatur.

Abb. 2. Papierelektropherogramm, normales Serum, Mensch. Versuchsanordnung wie Abb. 1.

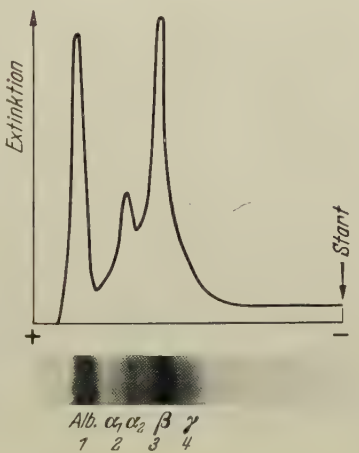


Abb. 3. →
Papierelektropherogramm, normales Serum (Mensch), auf die gleiche Stelle Corneaepithel-Extrakt (Rind) aufgetragen. Versuchsanordnung wie Abb. 1.

2. Pherogramme mit Alkylpolyäthylenoxyd.

Nach Extraktion mit 1% „Sch 600 R_2“ tritt im Elektropherogramm (Abb. 4) noch eine Vor-„fraktion“ („0“) auf, die keinen Gipfel zeigt, sondern plateauartig-flach ist. Quantitativ wurde sie zu etwa 1% bestimmt. Die übrigen Fraktionen bleiben im Bereiche normaler Streubreite unbeeinflußt (Mittelwerte): Frakt. 0: 1%; Frakt. 1: 3,8%; Frakt. 2: 25,7%; Frakt. 3: 56,3%; Frakt. 4: 13,2%.

Lediglich die Fraktion 1 erscheint etwas stärker ausgeprägt, doch ist die Streubreite so groß, daß dieser Unterschied aus dem Papierelektropherogramm noch nicht als signifikant beurteilt werden kann.

3. Pherogramme bei verschiedenen Konzentrationen von Polyäthylenoxyd.

Die Vor-„fraktion" trat auch in Erscheinung, wenn das Eiweiß mit NaCl extrahiert wurde und das Polyäthylenoxyd in Konzentrationen von 0,01 bis 10 % erst zum Puffer zugesetzt worden war. Das Bild stimmte bei 0,01, 0,1 und 1,0 % im wesentlichen überein, bei 10 % wurde es infolge Denaturierung der Eiweißkörper verwaschen. Zu beachten ist, daß 0,01 % „Sch 600" im Puffer eine weit höhere Konzentration bei der Elektrophorese darstellt als Extraktion des Gewebebreies mit der doppelten Menge (in bezug auf den zu extrahierenden Brei) „Sch 600", da hier das Polyäthylenoxyd durch den Puffer erheblich verdünnt wird. Daraus, daß trotzdem die Vor-„fraktion" in beiden Fällen auftritt, kann man schließen, daß das Polyäthylenoxyd von seiner ersten Berührung mit Eiweißkörpern ab verhältnismäßig fest haften bleibt. Es scheint, als ob es die Wanderung gewisser Eiweißkörper begünstigt und eine neue Fraktionierung herbeiführt oder daß assoziierte Eiweißkörper in seiner Gegenwart depolymerisieren.

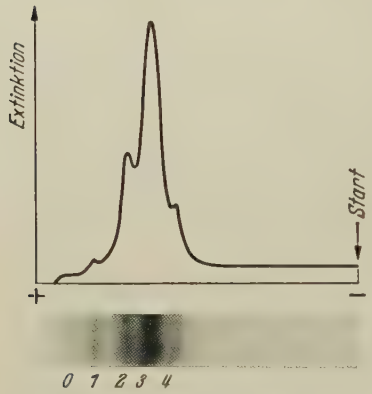


Abb. 4. Papierelektropherogramm, Corneaepithel, Rind. Extraktion mit 1 % „Sch 600 R 2". Versuchsanordnung wie Abb. 1.

Die Extrahierbarkeit mit 1 % „Sch 600 R_2" lag ebenso wie mit 0,9 % NaCl bei 42,8 % des Gesamteiweißes. Mit 10 % „Sch 600 R_2" ließen sich dagegen nur noch 36,8 % Eiweiß extrahieren, wohl durch die auch im Elektropherogramm zur Darstellung gekommene Denaturierung bedingt.

Die verwendeten „Sch 600"-Konzentrationen sind im Vergleich zu den therapeutischen sehr hoch. In therapeutischen Dosen ließ sich jedoch kein deutlicher Effekt auf das Elektropherogramm darstellen.

4. Vergleiche mit „Triton WR-1339".

Vergleichsweise wurde ein anderes nicht-ionenaktives Netzmittel in gleicher Weise untersucht. Es handelt sich um das amerikaniche „Triton WR-1339", nach Angaben der Herstellerfirma um einen Alkyl-Aryl-Polyäthylenoxydabkömmling.

Nach Extraktion mit einer 1 %igen wäßrigen Lösung fanden wir ein Pherogramm, das dem nach Extraktion mit „Sch 600 R_2" erzielten gleicht.

5. Versuche mit Alkylpolyäthylenoxyd am Serum.

Zum Vergleich wurden auch Untersuchungen mit Normalserum vorgenommen, einmal mit der Frage, ob die „Vorfraktion" auch beim Serum auftrete, zum anderen wegen der etwas stärker ausgeprägten Fraktion 1. Es wurde 0,1 % „Sch 600" dem Puffer zugesetzt. Eine Vorfraktion trat in keinem Falle auf. Die Albuminfraktion blieb unbeeinflußt. Auch die Globulinfraktionen zeigten das gewohnte Bild. (Lediglich war eine geringfügige Abnahme des γ-Globulins zugunsten des α_2-Globulins zu vermerken.) Man wird also sagen können, daß die Polyäthylenoxyde in therapeutischen Konzentrationen das Papierelektropherogramm des Serums unbeeinflußt lassen. — Soehring[16] und Mitarbeiter untersuchten den Einfluß auf die Blutsenkungsgeschwindigkeit und fanden ebenfalls ein negatives Ergebnis.

6. Über die Natur der Vorfraktion.

Es gibt zwar mehrere Färbungsmöglichkeiten für Polyäthylenoxydderivate, die auf deren Übergang in Polyoxoniumverbindungen beruhen, so vor allem mit Ammoniumkobaltrhodanid, Jod-Jodkalium und Brom-Bromkalium (Wurzschmitt[17]), doch geben auch Eiweißkörper diese Farbreaktionen. Das Polyäthylenoxyd ließ sich also auf den Elektropherogrammen in Gegenwart von Proteinen bisher nicht lokalisieren; am eindeutigsten wäre seine Markierung mit radioaktivem Kohlenstoff. Allein wandert es unter diesen Bedingungen im elektrischen Feld nicht.

Da die Vorfraktion möglicherweise Mucopolysaccharidcharakter haben könnte — die Gesamtcoronea enthält etwa 4 % Mucopolysaccharide (Woodin[14]) —, wurde die Perjodsäurefärbung (Hotchkiss u. McManus[18]) angewendet. Durch die Perjodsäure werden 1,2-Glykole zu Aldehyden oder Ketonen oxydiert, die sich mit dem Fuchsin des Schiffschen Reagens zu einem roten Farbstoff kondensieren. Bei dieser Färbung, mit der das Papier selbst nicht gefärbt wird, fanden sich Mucoproteide hauptsächlich im Bereiche der Corneafraktion 4. Beim Serum liegen sie vor allem bei α_2-, etwas schwächer bei α_1- und β-Globulin. Polyäthylenoxyd gibt diese Färbung nicht. Die Untersuchungen konnten die chemische Natur der Vorfraktion nicht klären.

7. Isoelektrischer Punkt.

Der isoelektrische Punkt wurde vom p_H 2,3 . . . 10,1 untersucht (Abb. 5), indem die Änderung der Trübung nephelometrisch gemessen wurde. Die Gipfel der Trübungen liegen bei p_H 4,2 bzw. 4,4, ebenso wie die der Unlöslichkeit der Proteine; sie liegen so dicht nebeneinander, daß daraus eine Verschiebung des isoelektrischen Punktes nicht abgeleitet werden kann. Zur Kontrolle wurde im abzentrifugierten Nieder-

schlag bzw. in der überstehenden Lösung der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Dann liegt die maximale Unlöslichkeit des Corneaepithel-Eiweißes bei demselben p_H. Protein wurde mit Teorell-Stenhagen-Universalpuffer verdünnt. Da bei „Sch 600"-Zusätzen Niederschläge auftraten, wurden in diesen Fällen Citronensäure-Phosphat-Puffer nach McIlwaine verwendet.

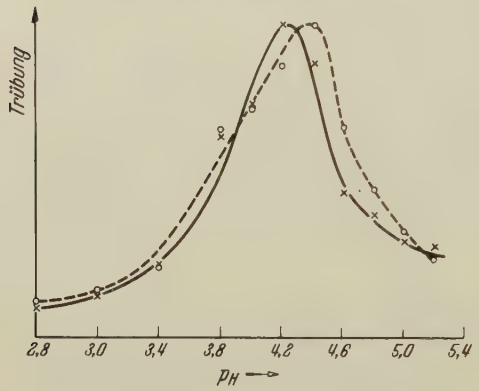


Abb. 5. Isoelektrischer Punkt, Nephelometrie, Corneaepithelextrakt. Citronensäure-Phosphat-Puffer (McIlwaine) bzw. Universalpuffer nach Teorell u. Stenhagen.

— × — ohne „Sch 600";
---o--- mit „Sch 600".

Diskussion.

Die hier mitgeteilten Versuche zeigen, daß die Eiweißkörper in Gegenwart von Polyäthylenoxyd nur wenig verändert werden. Das stimmt mit den Erfahrungen von Putnam[19] überein, der besondere Wirkungen nur von den ionogenen Netzmitteln wie quaternären Ammoniumverbindungen als Kation oder Dodecylsulfat als Anion beschreibt. Die geringen physikalisch-chemischen Veränderungen entsprechen der bekannt geringen Toxizität dieser Analgetika. Andererseits ist zu bedenken, daß bei den Methoden zur Fraktionierung von Proteinen auf Papier das Papier selber Adsorptionswirkungen hat und daß die Ergebnisse am Eiweiß bei der Papierelektrophorese mit der Elektrophorese von Tiselius verglichen werden müssen. Die Sulfonamide im Blute wandern bei der Kataphorese mit den Serumeiweißkörpern (Soehring[8], Kimmig u. Weselmann[20]). Bei der Papierelektrophorese trennen sie sich dagegen vom Eiweiß ab und wandern unabhängig davon (Kutzim[21]). Aber auch in der Elektrophorese von Antweiler ließ sich im Serum eine Vermehrung von schneller wandernden Pherogrammfraktionen nachweisen (Herrnring[22]). Um den Einfluß auf das Eiweiß noch genauer charakterisieren zu können, werden weitere Versuche mit Immunisierungs- und Präzipitinreaktionen ausgeführt.

Zusammenfassung.

Nach mechanischer Homogenisierung gelingt es, die Eiweißkörper der Epithelzellschicht der Rindercornea papierelektrophoretisch in mindestens 4 Fraktionen aufzuspalten. Zusatz der lokalanalgetisch wichtig

gewordenen Dodecylpolyäthylenoxydderivate ergab eine weitere plateauartige Vor-„fraktion", die mengenmäßig etwa 1% ausmachte. Im übrigen blieb das Elektropherogramm der Cornea weitgehend unverändert. Das gilt auch für normales Serum. Sehr hohe Konzentrationen (10%) führen zur Denaturierung des Eiweißes. Alkylpolyäthylenoxyd als nicht-ionenaktives Netzmittel verändert die Eigenschaften von Eiweißkörpern also nicht so stark wie ionogene Netzmittel.

Herrn Prof. Soehring danken wir für viele anregende Diskussionen. — Die untersuchten Polyäthylenoxyde wurden von der Badischen Anilin- und Sodafabrik, Ludwigshafen, zur Verfügung gestellt. Herrn Dr. Schöller sind wir zu Dank verpflichtet. — Der Rohm & Haas Company, Philadelphia, danken wir für die Überlassung von Versuchsmengen von „Triton WR-1339".

Literatur.

[1] Schöller, G.: Angew. Chem. **62**, 7 (1950). — [2] Soehring, K., K. Scriba, M. Frahm u. G. Zoellner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 301 (1951). — [3] Hochrein, M., u. I. Schleicher: Dtsch. med. Wschr. **76**, 936 (1951). — [4] Strack, K.: Münch. med. Wschr. **92**, 878 (1950). — [5] Schulz, K. H., A. Harz u. K. Soehring: Klin. Wschr. **30**, 663 (1952). — Ärztl. Forschg (Wörishofen) (im Druck). — Schulz, K. H.: Dermat. Wschr. **126**, 657 (1952). — [6] Lützenkirchen, A.: Med. Klin. **47**, 618 (1952). — [7] Soehring, K., M. Frahm et K. Mletzko: Arch. internat. Pharmacodynamie **91**, 112 (1952). — [8] Soehring, K.: Biochem. Z. **295**, 265 (1938). — [9] Grassmann, W., u. K. Hannig: Naturwiss. **37**, 496 (1950). — [10] Bücher, Th., D. Matzelt u. D. Pette: Klin. Wschr. **30**, 325 (1952). — [11] Michaelis, L.: Biochem. Z. **234**, 139 (1931). — [12] Demling, L.: Klin. Wschr. **30**, 74 (1952). — [13] Henning, N., H. Kinzlmeier, L. Demling u. E. Mannuss: Klin. Wschr. **30**, 390 (1952). — [14] Woodin, A. M.: Biochemic. J. **51**, 319 (1952). — [15] Turba, F., u. H. J. Enenkel: Naturwiss. **37**, 93 (1950). — [16] Soehring, K.: Mündliche Mitteilung. — [17] Wurzschmitt, B.: Z. anal. Chem. **130**, 105 (1949). — [18] Vgl. Glick, D.: Techniques of Histo- and Cytochemistry. New York: Interscience Publishers Inc. 1949. — [19] Putnam, F. W.: Adv. Protein. Chem. **4**, 79 (1948). — [20] Kimmig, J., u. H. Weselmann: Arch. f. Dermat. **182**, 436 (1942). — [21] Kutzim, H.: Naturwiss. **39**, 135 (1952). — [22] Herrnring, G.: Priv. Mitteilung.

Doz. Dr. V. Klingmüller, Physiol.-Chem. Institut der Universität Hamburg.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 222—238 (1953).

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. F. Feyrter).

Über den Einfluß der Nebenschilddrüsen auf die Phosphatasen der Nieren.

Von
W. Eger und H. F. Geller.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. November 1952.)

Es ist bekannt, daß zwischen Nierenfunktionen und Epithelkörperchen (EK) enge Beziehungen bestehen. Diese Erkenntnis ging von der Beobachtung aus, daß Nierenerkrankungen bei der generalisierten Ostitis fibrosa mit EK-Vergrößerungen gehäuft vorkommen. Dabei sind allerdings 2 Erkrankungsformen auseinander zu halten. In dem einen Fall kommt es infolge erhöhter Kalk- und Phosphatausscheidung durch die Nieren zu Steinbildungen im Nierenbecken, zu Kalkablagerungen im Nierengewebe und zu sekundären schweren Nierenveränderungen. Im anderen Fall findet sich eine chronische Erkrankung der Nieren mit Insuffizienz des Organs, und nach der Untersuchung und der Vorgeschichte muß angenommen werden, daß die Nierenveränderung zur Vergrößerung der EK und zur Ostitis fibrosa generalisata führte.

Die letzten Fälle sind für die Betrachtung der Zusammenhänge entscheidend und wichtig. Auf sie wurde zuerst von McCallum[1] und Hubbard u. Wentworth[2] aufmerksam gemacht. Weitere einschlägige Fälle veröffentlichten später Herbert u. Mitarb.[3], Eger[4], Snapper[5] und Richards[6] u. a.

Systematisch sind diese Beziehungen zuerst von Bergstrand[7] untersucht worden. Er fand bei chronischen Nierenerkrankungen vergrößerte EK. Eine Anzahl späterer Untersucher erweiterte diese Beobachtung und fand bei chronischer Niereninsuffizienz vergrößerte EK sowohl gegenüber anderen Krankheitsgruppen wie gegenüber normalen Fällen[8, 9, 10]. Pappenheimer u. Wilens[11], Albright u. Mitarb.[12] und später Fritz u. Birnes[13] fanden sogar eine von der Schwere der Nierenerkrankung abhängige Vergrößerung der EK.

Castleman u. Mallory[14] wiesen bei Niereninsuffizienz auf eine Hyperplasie der wasserhellen Zellen der EK hin. Ohntrup[9] bestätigte diesen Befund und folgerte daraus, daß die wasserhelle Zelle eine aktive Sekretionsphase der EK anzeigt. Neuerdings beschrieben auch Fritz u. Birnes[13], Bell[15] und Norris[16] als das beherrschende Zellbild solcher EK die wasserhelle Zelle, die bei schwerer und längerer Erkrankung um so mehr vor der Hauptzelle in Erscheinung trete.

Auch experimentell wurde diese Frage untersucht, indem man mechanisch[17, 18] oder chemisch[4] die Nieren schädigte und danach eine Hypertrophie der EK fand. Die Hypertrophie ging mit der Schwere der Nierenveränderungen *parallel*[19, 20]. In

ähnlichen Versuchen erzielten Highman u. Hamilton[21] bei Hunden schon nach 4 Wochen eine deutliche Vergrößerung der EK.

Bemerkenswert sind die Befunde von Pappenheimer u. Johnson[22]. Sie sahen bei teilweise nephrektomierten Ratten EK-Vergrößerungen fast um das Doppelte auch dann, wenn sie EK-Hormon zuführten. Die Vergrößerung konnte also durch Hormon nicht hintenan gehalten werden. Die Beobachtung scheint den engen Zusammenhang von EK und Nieren besonders zu demonstrieren. Von der Niere gehen offenbar Rückwirkungen auf die EK aus, die ein zwangsläufiges Geschehen darstellen. Die EK müssen mehr Hormon produzieren, auch wenn es durch künstliches Angebot in reichlicher Menge vorhanden ist. Man muß allerdings bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse berücksichtigen, daß Ratten auf Parathormon schwer ansprechen und besonders hohe Dosen benötigen.

Auf welchem Wege die Nieren die EK-Funktion beeinflussen, wird verschieden erklärt. Jede dazu geäußerte Ansicht ist durch entsprechende Experimente gestützt und hat eine gewisse Berechtigung. Bei der Störung der Nierenfunktion kann es zu einer relativen Acidose, also zu einer Verminderung der Alkalireserve kommen. Die kranke Niere bildet nicht mehr genügend Ammoniak zur Absättigung und Ausscheidung der sauren Bestandteile des Blutes. Es wird dazu das Calcium des Blutes und des Gewebes herangezogen. Der Calciumspiegel im Blut sinkt[23, 24, 25], und die EK werden zu erhöhter Hormonproduktion veranlaßt, um mehr Calcium aus dem Skelet zu mobilisieren und zur Kompensation der Acidose bereitzustellen.

Diese Vorstellung von der Bedeutung der relativen Acidose wird durch Versuche von Katase[26] untermauert. Er fand bei Ratten und Kaninchen nach chronischer Behandlung der Tiere mit Stoffen, die eine relative Acidose hervorrufen, eine EK-Vergrößerung.

Etwa in dieselbe Richtung geht die Meinung von Highman und Hamilton[21], wonach die Phosphaterhöhung im Blut bei Niereninsuffizienz ein Absinken des Calciumspiegels nach sich zieht und der Kalkmangel im Blut wiederum die EK zur erhöhten Tätigkeit veranlaßt. Luce[27], Marine[28] u. a. erzielten mit calciumfreier Diät (also bei Kalkmangel) an Ratten und Hühnern EK-Hyperplasien.

Damit kommen wir auch zur Phosphatstauung und Erhöhung des Phosphorspiegels im Blut, wie sie bei Niereninsuffizienz mehrfach nachgewiesen wurde[29, 30, 31, 32]. Die Verhältnisse wurden auch im Zusammenhang mit der renalen Rachitis häufig untersucht und erörtert[33]. Grasheim u. Lukas[34] wiesen nach, daß die Hyperphosphatämie mit der Niereninsuffizienz parallel geht. Die Erhöhung des Phosphorspiegels allein soll nun die EK zur Funktionssteigerung anregen.

Diese Vermutung findet ihre experimentelle Stütze durch Untersuchungen von Drake[4] u. Mitarb.[35], die durch langdauernde intravenöse Injektionen von Phosphaten bei Kaninchen EK-Vergrößerungen erzielten. Die Ansicht einer primären Wirkung der Hyperphosphatämie hat noch insofern manches für sich, als das Parathormon anscheinend auf den Phosphorstoffwechsel unmittelbarer wirkt als auf den Calciumstoffwechsel, wie weiter unten näher ausgeführt wird. Daß aber

die Verhältnisse durchaus nicht so klar liegen, zeigen die Ergebnisse von Highman u. Hamilton[21]. Nach Nierenexstirpation an Hunden sahen sie den Phosphor des Blutes beträchtlich, mäßig oder gar nicht ansteigen, dabei aber in allen Fällen eine Hyperfunktion der EK! Ebenso fanden sie bei nierenkranken Menschen eine Hyperfunktion der EK, aber sowohl ohne wie mit einem Phosphatanstieg im Blut. Man sieht daraus, daß in diesem Punkt noch keine Klarheit herrscht, kann aber doch das eine festhalten, daß bei Niereninsuffizienz die EK in die Störung im Sinne einer Funktionssteigerung einbezogen werden.

Es gibt nun eine Reihe klinischer und experimenteller Beobachtungen, die darauf hinweisen, daß auch umgekehrt das EK-Hormon die Nierenfunktion beeinflußt.

Beim Hyperparatyreoidismus findet sich häufig eine Polyurie mit Polydipsie[12, 36]. Unmittelbar nach Herausnahme von vergrößerten EK beim Hyperparathyreoidismus tritt eine Oligurie ein. Hunter u. Aub[37] sahen nach 50 EH Hormon keinen Anstieg des Calcium- und Phosphorspiegels im Serum, aber eine Verdoppelung der Ausscheidung im Urin. Bemerkenswert ist hierzu, daß nach EK-Hormongaben die Steigerung der Phosphatausscheidung im Urin sofort, die der Kalkausscheidung allmählich einsetzt und umgekehrt nach Entzug des Hormons im Urin die Phosphate sofort abfallen, das Calcium allmählich nachfolgt[12]. Die Phosphatausscheidung steht demnach unter der unmittelbaren Wirkung des Hormons.

Auch experimentell haben sich diese Beobachtungen bestätigt. Dabei erwiesen sich parathyreoidektomierte Tiere als besonders empfindlich gegen Hormonwirkung[39]. Die Ursache der deutlichen Empfindlichkeit der Nieren parathyreopriver Ratten auf Hormon ist allerdings nicht ganz klar[40].

Tweedy u. Campbell[41] zeigten mit Radiophosphor unter vermehrter Hormonwirkung eine ansteigende Retention in Leber und Niere und eine beschleunigte Ausscheidung im Urin; nach Herausnahme der Schilddrüse mit den EK einen Abfall der Ausscheidung in den ersten 24 Std, die aber nach 48 Std wieder zur Norm zurückkehrte. Schon mit 5 EH, nach Stoerk u. Silber[42] mit 20 EH, ließ sich eine prompte Wirkung auf die Phosphatausscheidung im Urin erzielen.

Dieser Umstand wird von Tweedy, Chilcote u. Patras[40] als Beweis für eine direkte Wirkung des Hormons auf die Nieren angesehen. Die Reaktion ist so empfindlich, daß sie Davies[39] als Test für das EK-Hormon ausbaute. Diese Beobachtung erscheint um so bemerkenswerter, als es nur mit ganz hohen Hormondosen (über 100 EH) gelingt, den Calciumspiegel von Ratten über die Norm zu erhöhen[40, 42].

Einen wesentlichen Beitrag zu dieser Frage lieferten Brüll u. Carbonescu[43]. Sie schalteten Nieren parathyreoidektomierter Hunde in den Kreislauf gesunder Tiere und erhielten eine 10mal größere Phosphatausscheidung. Neuerdings konnten nun Harrison u. Harrison[44] zeigen, daß das EK-Hormon eine Hemmung der Reabsorption des Phosphors in den Tubuli verursacht. Dieser Befund konnte aber weder von Fay, Behrman u. Buck[45], noch von Jahan u. Pitts[46] bestätigt werden, die auf Grund ihrer Versuchsergebnisse annehmen, daß das Parathormon primär den Calciumstoffwechsel unabhängig von einem spezifischen Effekt auf die Nieren beeinflußt.

Wenn also auch noch manche Fragestellung offen bleibt, so scheint doch einiges dafür zu sprechen, daß das Parathormon auf die Nieren-

funktion eine Wirkung ausübt und im besonderen die Phosphatausscheidung regelt. Dabei dürfte es sich dann um eine aktive Stoffwechselleistung der Niere handeln, *die* insbesondere *von Fermenten gesteuert wird*. Es lag deshalb nahe zu untersuchen, wie *weit der Phosphatasegehalt der Nieren von den EK abhängig ist*, bzw. von ihnen beeinflußt wird, zumal die Niere bekanntlich zu den phosphatasereichsten Organen gehört.

Bei Beantwortung der Frage wird es ebenso interessieren, wie weit überhaupt quantitative Unterschiede im allgemeinen auftreten und in welchen einzelnen Abschnitten des Nephrons sich solche Unterschiede bemerkbar machen. Besonders im Hinblick auf die Theorie von Harrison u. Harrison[44] erscheint eine lokalisatorische Bestimmung der Phosphatase wichtig und dafür der histologische Nachweis besonders geeignet, wie er von Gomori[47] ausgearbeitet wurde.

Zur Epithelkörperchenexstirpation bei Ratten.

Als Versuchstiere benutzten wir Ratten. Die EK-Exstirpation wurde in der üblichen, schon früher[4] geübten Weise vorgenommen. Dazu müssen aber noch einige Bemerkungen angefügt werden. Den Erfolg der Operation kann man an der nach etwa 5—6 Std auftretenden Tetanie ablesen. Sie ist dafür ein sicheres Zeichen, wobei allerdings nur deutliche tetanische Krämpfe positiv gewertet werden dürfen. Die Tiere gehen meist im Anfall zugrunde, wenn man nicht prophylaktisch Calcium oder AT 10 gibt. Solche Zusätze beeinflussen mitunter das Versuchsergebnis beträchtlich bzw. verändern es völlig[48]. Verabreicht man mit Rücksicht darauf diese Stoffe nicht, sind die Verluste an Tieren durch Tetanie erheblich. Es macht dann mitunter viel Mühe, die für das Ergebnis notwendige Tierzahl beizubringen.

Wird keine eindeutige Tetanie beobachtet, so erscheint der Erfolg des Eingriffes zweifelhaft. Vor diesem Mißerfolg schützt man sich auch nicht dadurch, daß man beiderseits die ganze Schilddrüse herausnimmt, ein Verfahren, das von Tweedy u. Mitarb.[40] zu ihren Versuchen über den Einfluß der EK auf die Phosphatausscheidung der Niere geübt wird. Einmal wird durch die Mitherausnahme der Schilddrüse ein Faktor in den Versuch einbezogen, den man in seiner Auswirkung nicht abgrenzen kann. Außerdem zeigt die mikroskopische Untersuchung der Halsorgane in Serienschnitten, worauf Eger[4] schon früher ausführlich hinwies, gar nicht so selten die EK losgelöst vom oberen Pol der Schilddrüse hoch oben hinter der Rachenwand. Solche EK entgehen auch bei der gesamten Herausnahme der Schilddrüse der Entfernung. Selten sieht man Neben-EK als kleine Körper an der Carotis neben den beiden Haupt-EK. Sie wurden schon von Erdheim beschrieben und auch von uns in früheren Untersuchungen[4] gesehen. Wie weit sie funktionelle Bedeutung haben, ist nicht sicher.

Auf Grund dieser Beobachtungen und unserer früheren Erfahrungen kann als die einzig zuverlässige Kontrolle für die gelungene Exstirpation nur die Serienschnittuntersuchung der Halsorgane gelten, sofern man sich nicht bloß auf die Tiere beschränken will, bei denen man eine eindeutige Tetanie feststellte. Jede andere Kontrolle birgt eine erhebliche Fehlerquelle in sich. Aber auch das Symptom der Tetanie ist zweifelhaft und wird in Frage gestellt, wenn man alte Tiere benutzt, die gelegentlich nur vorübergehend und dann leicht übersehbare tetanische Anfälle aufweisen, oder wenn man Versuche ausführt, bei denen z. B. durch Injektion von Elektrolyten das Auftreten der Tetanie möglicherweise verhindert wird.

Zum Nachweis der Phosphatasen in der Niere.

Der histochemische Nachweis der alkalischen und sauren Phosphate wurde nach der Methode von Gomori[47] vorgenommen. Wir verwandten dabei das von Feyrter[49] empfohlene native Gefrierschnittverfahren. Über die Vorteile dieser Methode und ihre Durchführung wurde in einer gesonderten Arbeit berichtet[51], so daß es nicht notwendig ist, hier näher darauf einzugehen.

Bekanntlich gehört die Niere neben den Knochen und der Darmschleimhaut zu den phosphatasereichsten Organen. Bei der histologischen Reaktion macht sich das darin bemerkbar, daß bei gleichem Verfahren schon 15 min Bebrütungszeit genügen, um an der Niere eine kräftige Schwärzung zu erhalten, während man die Leber unter denselben Bedingungen 5 Std der Reaktionslösung aussetzen muß. Das gilt für die alkalische Phosphatase. Die saure ist in viel geringerer Menge nachweisbar. Hierfür muß man die Schnitte 3 Std bebrüten, um kräftige Bilder zu erhalten. Gerade bei diesem Nachweis bewährt sich das native Gefrierschnittverfahren, da die saure Phosphatase gegenüber sonstigen Einwirkungen, insbesondere Alkohol, sehr empfindlich ist[50, 51] und beim Nachweis am eingebetteten Material recht unterschiedliche Ergebnisse zeitigt[52]. Die Anwendung des Verfahrens gestattet mit einiger Sicherheit auch eine quantitative Auswertung des Schnittes vorzunehmen.

Das histologische Bild der Niere ist vielfach untersucht. Es kann nicht die Aufgabe sein, auf diese Arbeiten im einzelnen einzugehen[53, 54, 55]. In der deutschsprachigen Literatur hat vor allem Neumann[56] die Nierenbefunde erörtert. Die alkalische Phosphatase ist ausschließlich in der Rinde, in den gewundenen Harnkanälchen 1. Ordnung und im proximalen Teil der Henleschen Schleife zu finden. Aufsteigender Schenkel, Schaltstück, Sammelröhre und die Glomeruli sind frei, wie es auch aus unserer Abb. 1 hervorgeht. Der Befund entspricht insofern unserer heutigen Vorstellung von der Nierenfunktion, als an den Orten aktiver funktioneller Leistung der Niere, also in den Tubuli, sich der massive Anteil der Phosphatase befindet (Moog[57]).

Im einzelnen ist bemerkenswert, daß die alkalische Phosphatase sich fast ausschließlich in der Zellgrenzschicht zum freien Kanälchenlumen, im Bürstensaum, nachweisen läßt[56, 57]. Denn hier spielen sich die Resorptionsvorgänge ab, die den größten Teil der Nierenarbeit beanspruchen. Auf diese Zusammenhänge machte auch Neumann[56] aufmerksam.

Der Glomerulus ist entsprechend seiner vorwiegend passiven Filtrationsfähigkeit frei von alkalischer Phosphatase. Die Filtrationsvorgänge lassen sich aber nicht allein mit rein physikalischen Gesichtspunkten erklären[23]. Es müssen auch fermentativ stoffwechselmäßige Umsetzungen eine Rolle spielen. Der Nachweis von saurer Phosphatase,

wie er in unseren Abb. 2 und 3 zu sehen ist, spricht dafür. Auf das Organ im ganzen gesehen verteilt sich die saure Phosphatase in derselben Weise wie die alkalische, also reichlich und vorwiegend in den proximalen gewundenen und graden Harnkanälchen, während Schaltstücke, Zwischenstücke, Sammelröhrchen und Ausführungskanälchen wenig oder gar nicht reagieren (siehe Abb. 2 und 3). Im einzelnen zeigt die Zelle eine gewisse Betonung der Grenzschicht zum Lumen, aber nicht mit der Ausschließlichkeit wie bei der alkalischen Phosphatase. Man findet die saure in der ganzen Zelle mit einer stärkeren Reaktion an der Basis (Abb. 3).

Man könnte aus *diesem unterschiedlichen Befund der alkalischen und sauren Phosphatase*, bezogen auf die Zelle für die Niere, folgern, daß *erstere mehr die Arbeit der Stoffaufnahme und -abgabe* an der Oberfläche zu leisten hat, *die saure aber die Umsetzungen im Inneren der Zelle.*

Versuchsergebnisse.

Bei Vorversuchen entfernten wir den Tieren lediglich die EK und verglichen die Nieren mit solchen von Kontrollratten, die nicht operiert waren oder bei denen die Operation mißlungen war. Bei zusammenfassender Beurteilung der histologischen Befunde hatte man durchaus den Eindruck, daß Unterschiede bestünden und eine Abnahme sowohl der alkalischen wie der sauren Phosphatase nach der EK-Entfernung erfolgt sei.

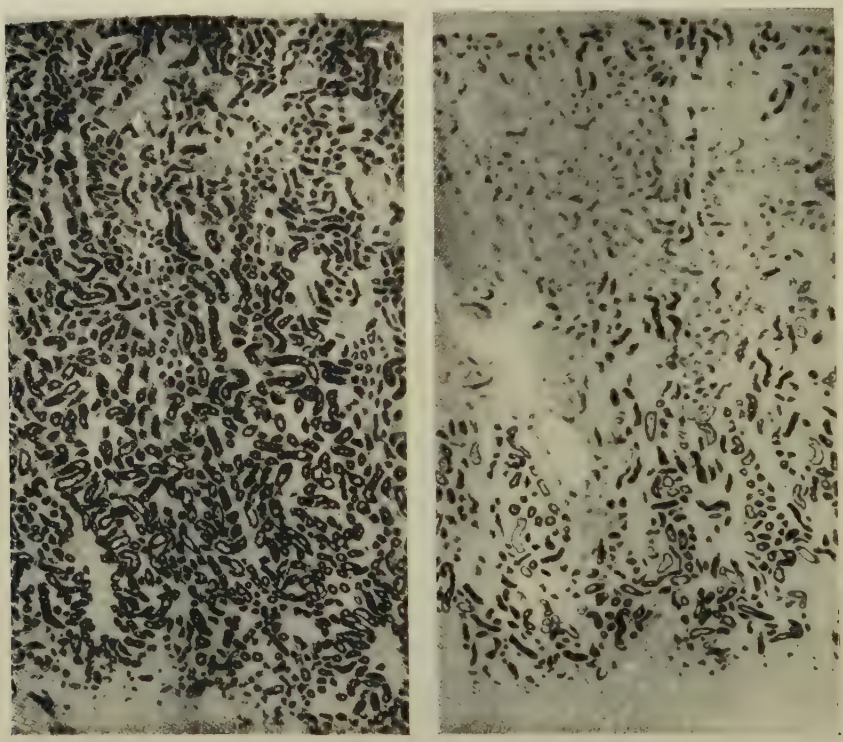
Um sichere Vergleichsmöglichkeiten zu erhalten, gingen wir weiterhin so vor, daß wir gleichzeitig mit den EK auch eine Niere exstirpierten und diese Niere mit der desselben Tieres nach dem Versuch verglichen. *Bei 8 gelungenen Operationen nahm die alkalische Phosphatase deutlich, zum Teil beträchtlich ab* (s. Abb. 1). Nur in einem Fall war eine leichte Zunahme zu verzeichnen. Die Veränderungen traten besonders an den gewundenen Harnkanälchen erster Ordnung auf, während der gerade absteigende Teil der Henleschen Schleife weniger beteiligt war. Dadurch entstand meist im Überblicksfeld eine schwach reagierende Außenzone und eine stärker geschwärzte Innenzone, wie es auch in Abb. 1 zum Ausdruck kommt.

Keinen solchen eindrucksvollen Schwund nach EK-Exstirpation zeigt die saure Phosphatase in 5 Fällen, überhaupt keinen Unterschied bei 3 Tieren. An den Glomeruli, die bei alkalischer Phosphatase völlig unbeteiligt sind, sank der Gehalt an saurer Phosphatase nur in 2 Fällen ab.

Bei den 7 Kontrolltieren war nach der einseitigen Nierenexstirpation gegenüber der anderen Niere für die alkalische Phosphatase 5mal eine leichte Zunahme und 2mal kein Unterschied und für die sauere 1mal eine Zunahme, 1mal eine leichte Abnahme und 5mal

kein Unterschied zu verzeichnen. Dieser Befund stimmt mit Angaben von Dragoni[58] überein, der nach der Herausnahme der einen Niere eine Zunahme der alkalischen Phosphatase der anderen Niere fand.

Hervorzuheben ist die Beobachtung, daß *die saure Phosphatase der Glomeruli in 5 von 7 Fällen deutlich* abnahm (Abb. 2). Man wird geneigt sein, diese Verminderung als Ausdruck der Mehrarbeit der Niere nach Entfernung der anderen anzusehen.



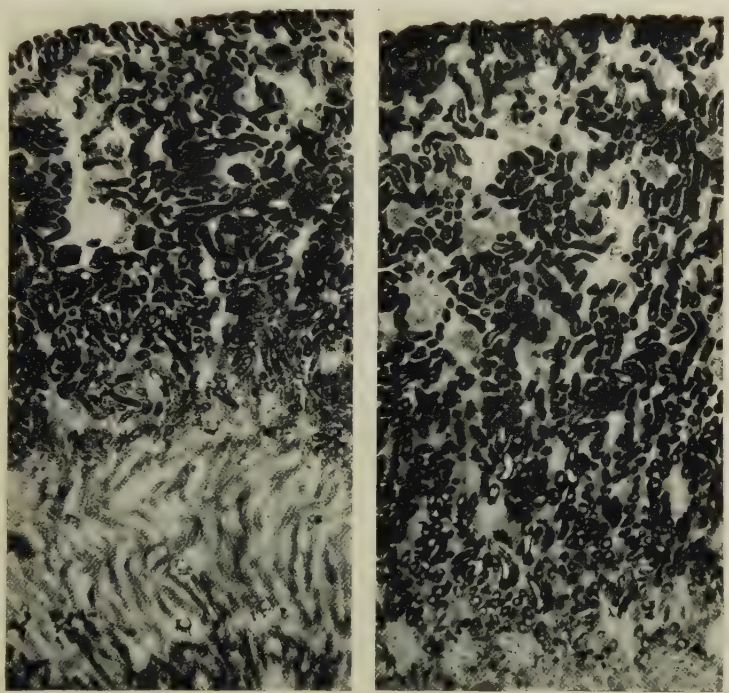
a *b*

Abb. 1. Alkalische Phosphatase der Nieren desselben Tieres. *a* vor dem Versuch, *b* nach Entfernung der Nebenschilddrüsen mit beträchtlicher Abnahme der Phosphatasereaktion.

Weiterhin versuchten wir mit Parathormon den Ausfall der EK auszugleichen. Den Tieren wurde etwa 2 Tage nach der Exstirpation eine Niere herausgenommen und zugleich Hormon gespritzt. Entsprechend den Angaben von Tweedy und Mitarbeitern[40] und Davies[39] erreichten wir durch diese Injektion von 20—40 E keine Normalisierung des Blutcalciumspiegels, noch viel weniger seine Erhöhung über den Normalwert von etwa 10 mg%. Dazu sind viel höhere Dosen (über 100 E und mehr) notwendig, wie oben erwähnt wurde. Der Umstand,

daß die Ratte beträchtlich höhere Hormondosen braucht, um deutlich zu reagieren, mag vielleicht ein Grund sein, daß die Ergebnisse dieser Versuchsreihe nicht so einheitlich und überzeugend ausfielen.

Wir erhielten nach 12stündiger Hormonwirkung 3mal eine Zunahme der alkalischen Phosphatase und 1 mal eine Abnahme, mit höheren Dosen nach 24 und 48 Std 4mal keinen Unterschied und 2mal eine leichte Abnahme: bei der sauren Phosphatase 4mal eine Zunahme, 4mal keinen Unterschied und 2mal eine Abnahme. Die Ergebnisse



a *b*

Abb. 2. Saure Phosphatase der Nieren desselben Tieres *a* vor dem Versuch, *b* nach Entfernung einer Niere mit beträchtlicher Abnahme der Reaktion an den Glomeruli.

sind nicht so eindeutig wie im vorhergehenden Versuch des Hormonmangels, zumal man nach diesem Versuch eine einheitliche Verstärkung der Reaktion erwartet hatte. Im großen und ganzen kann man aber doch feststellen, daß durch die Einwirkung des Hormons ein weiteres Absinken der Reaktionsstärke verhindert und in einem Teil der Fälle eine Zunahme, also eine Normalisierung des Phosphatasegehaltes durch das Hormon erreicht wurde.

Die Beurteilung der Befunde an den Glomeruli ist zu unterschiedlich, um sie zu verwerten.

Zur Kontrolle wurden die Versuche noch einmal in derselben Form durchgeführt, aber statt Hormon nun Calcium gespritzt. Danach fand sich in 2 Fällen eine recht deutliche Zunahme, 2mal kein Unterschied und 1mal eine leichte Abnahme der alkalischen Phosphatase und in 2 Kontrollfällen eine Verstärkung der Reaktion. Die saure Phosphatase ergab keine bemerkenswerten Differenzen. Im ganzen gesehen machte sich also eine Tendenz zum stärkeren Ausfall der Reaktion bemerkbar.

Nun führten wir noch einen Modellversuch durch, indem wir das Hormon direkt auf den Nierenschnitt einwirken ließen und außerdem die Reaktionslösung mit Hormon beschickten. In früheren ähnlichen

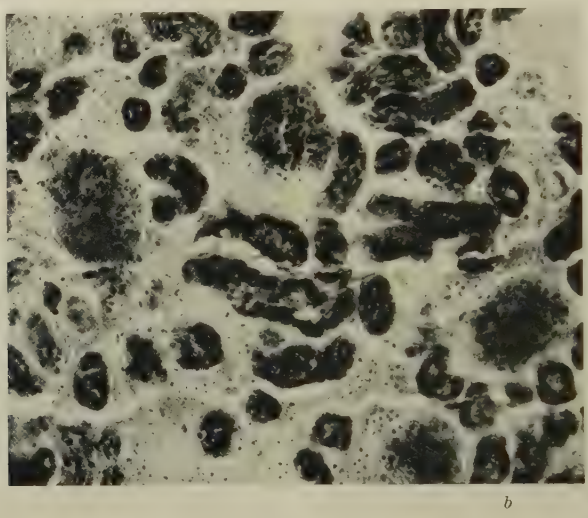
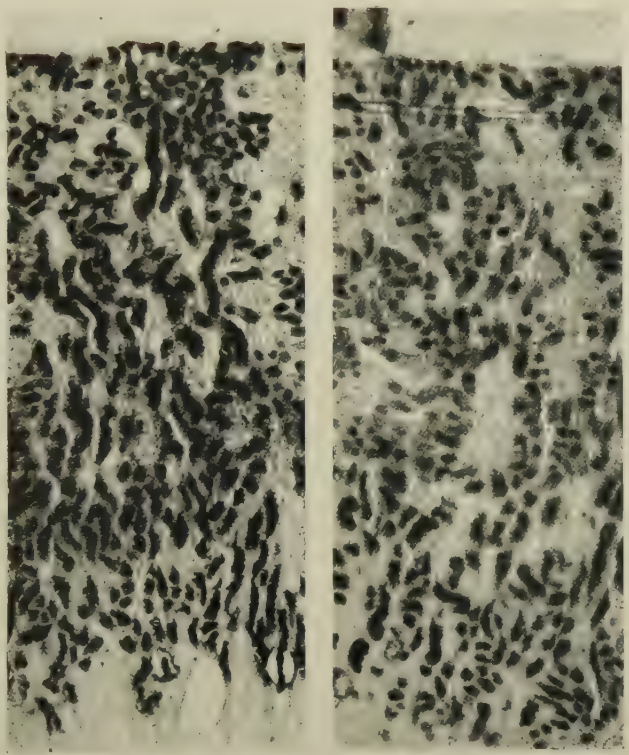


Abb. 3. Saure Phosphatase der Niere bei stärkerer Vergrößerung. Positive Reaktion der Glomeruli. An den Tubulusepithelien leichte Betonung des Bürstensaumes (*a*), sonst Verteilung über die ganze Zelle mit einer Verstärkung an der Zellbasis (*b*).

Versuchen hatte es sich gezeigt, daß nach Alkoholfixierung keinerlei Unterschiede der Phosphatasereaktion durch direkte Hormoneinwirkung auftraten. Diesmal benutzten wir native Gewebsschnitte ohne vorausgehende Alkoholfixierung. Wir gingen von der Vorstellung aus, daß das native, durch Alkoholfällung noch nicht denaturierte Eiweiß des Fermentes eher mit dem Proteohormon der EK „reagieren" und damit umgelagert werden könne. Wir wollen damit den nativen Gefrierschnitt nicht mit lebendem Gewebe gleichsetzen, glauben aber, daß er den Gegebenheiten lebenden Gewebes näher steht als alkoholfixiertes Gewebe. Außerdem schafften die hohe Hormonkonzentration und der Fortfall der Blutgewebsschranke, über die im lebenden Organismus das Hormon in die Zelle gelangt, ganz andere Verhältnisse, als sie für den intakten Organismus gelten. Es kam uns nur darauf an, den Erfolg

der unmittelbaren Einwirkung festzustellen. Die Vergleichsschnitte wurden, um eine sofortige innige Verbindung mit dem Hormon zu erreichen, mit diesem angefeuchtet und sofort in die mit Hormon beschickte Reaktionslösung gebracht. Aus Abb. 4 ist zu entnehmen, daß der Ausfall der Reaktion unter Hormonwirkung merkbar schwächer wird.



a *b*

Abb. 4. Direkte Einwirkung von Parathormon auf den nativen unfixierten Nierengewebsschnitt. *a* alkalische Phosphatase ohne Hormonwirkung, *b* mit Hormonwirkung. Abnahme der Reaktion.

Diskussion.

Wenn man sich fragt, *wie die beträchtliche Abnahme der histochemischen Phosphatasereaktion* nach Entfernung der EK *zu erklären* ist, kann man bei der Beantwortung der Frage *von 2 Voraussetzungen ausgehen.*

Einmal wird man *den Ausfall der Reaktion ganz allgemein auf eine Störung des Mineralstoffwechsels* und der Ausscheidung dieser Stoffe durch die Nieren beziehen. Dem Parathormon kommt dann im Sinne von Jahan u. Pitts[46] kein spezifischer Effekt auf die Nierenfunktion

zu, sondern seine Wirkung liegt jenseits der Nieren, die lediglich durch die Störung des Mineralstoffwechsels in diesen Prozeß mit einbezogen werden. *Der histochemisch nachweisbare Phosphataseschwund ist dann Produkt dieses Vorganges* und vielleicht als Ausdruck eines stärkeren Verbrauches dieser Fermente anzusehen. Geht man auf diese Gedanken näher ein, geben sie in keiner Weise eine befriedigende Erklärung der Verhältnisse, zumal damit der Niere eine völlig passive Rolle zugewiesen wird.

Im anderen Falle setzt man voraus, daß *die Phosphate in den Tubuli rückresorbiert* werden und diese Resorption nach Harrison u. Harrison[44] durch einen spezifischen Effekt des Parathormons gehemmt wird. Wenn man die Dinge so betrachtet, dürfte es angebracht sein, sich noch einmal den Vorgang zu vergegenwärtigen.

Beim Fehlen des Hormons scheidet die Niere weniger Phosphat aus, unter erhöhter Hormonwirkung verstärkt sich die Ausscheidung. Mit anderen Worten: im ersten Fall resorbieren die Tubuli aus dem durch die Glumeruli filtrierten Harn vermehrt Phosphat, im zweiten Fall weniger als unter normalen ausgeglichenen Bedingungen. *Der Mehrarbeit der Resorption entspricht* histologisch *eine Abnahme der Phosphatase* der Tubuli, der *geringeren Arbeit eine Zunahme* der Fermentreaktion.

Die Phosphate werden vom Glomerulus in der Hauptsache als tertiäres Calciumphosphat abgeschieden. Eine Rückresorption in dieser Form ist nach unseren heutigen Vorstellungen nicht denkbar. Die Phosphorsäure wird mit organischen Substanzen verestert, im Zuge der Umsetzung von den Tubulusepithelien resorbiert und vielleicht als Phosphatidkomplex durch die Zelle transportiert[59], das Calcium weiter ausgeschieden oder an organische Substanzen gebunden und von der Zelle aufgenommen.

Diese Vorstellung erfordert die Annahme, daß *die histochemisch nachgewiesenen Phosphatasen*, die sich ja überwiegend an der Grenzmembran von Kanälchenlumen und Tubulusepithel lokalisieren, *nicht nur Phosphorsäureester hydrolysieren, sondern auch synthetisieren*[60]. Es muß sich also bei den Phosphatasen der Niere um ein System von Enzymen[57] handeln, die sowohl nach der Seite der Synthese wie der Spaltung tätig sind. Allerdings haben Albers[61] und Lipman[62] gegen eine solche Annahme Stellung genommen, da für die Phosphorylierung besondere Fermente wie die Hexokinase, die Myokinase und die Adenylpyrophosphatase verantwortlich seien[57]. Das gilt nun im wesentlichen für die Phosphorylierungsvorgänge beim Zuckerumbau. Für eine ganze Reihe von einfachen Estern der Phosphorsäure ist die synthetisierende Wirkung eine einfache Umkehrung der Phosphatasewirkung[63]. Es ist also eine beiderseitige Ausrichtung sowohl nach der Synthese wie nach der Spaltung nicht nur theoretisch zu fordern, sondern auch für einzelne Phosphatasen nachgewiesen[46].

Das Fermentsystem Phosphatase (Phosphorylase) wird nun in der Niere durch chemische, nervale und hormonale Reize so beeinflußt, daß es sich einmal mehr nach der Seite der Esterspaltung, ein andermal nach der der Esterbildung ausrichtet und so den Phosphorstoffwechsel der Niere ausbalanciert. *Mit dem histochemischen Nachweis erfaßt man nur esterspaltende Fermente* und damit *den Anteil, der im Augenblick in dieser Form vorliegt.*

Wird beim Ausfall der EK mehr Phosphat resorbiert, würde dies eine *Verschiebung des Fermentsystems nach der Seite der Synthese* bedeuten. Die *spaltende Form der Fermente* nimmt an Menge ab und verursacht *entsprechend unseren histologischen Befunden einen wesentlich schwächeren Reaktionsausfall*, während die esterbildenden Fermentformen sich dem histochemischen Nachweis entziehen. Die Verminderung betrifft in der Haupsache die proximalen gewundenen Harnkanälchen, die auch als Ort der Phosphatresorption angesehen werden (Gremels[65]) (s. Abb. 1). Durch den Ausfall des Hormons wird das Enzymsystem aus seinem funktionellen Gleichgewicht gebracht. Es bildet sich ein dysenzymatischer Zustand (Dysenzymie). Dieser Begriff, der allgemein pathologisch von umfassender Bedeutung ist, wurde in früheren Arbeiten von uns vielfältig erörtert und erläutert[66].

Umgekehrt wird bei vermehrter Hormonzufuhr sich das Gleichgewicht des Fermentsystems nach der esterspaltenden Seite verschieben und damit histochemisch eine Fermentzunahme festzustellen sein. Wenn ein solcher Nachweis in unseren Versuchen nicht eindeutig gelungen ist, so muß man darauf hinweisen, daß mit den verhältnismäßig groben Methoden der histochemischen Reaktion wohl nur massive Unterschiede der Quantität erfaßt werden. Immerhin zeigen 3 parathyreoiprive Tiere nach Hormongabe ein Zunahme der Reaktion und die übrigen zumindest keine Abnahme, sind also durch die Hormonzufuhr wieder kompensiert und in einem Gleichgewichtszustand.

Nach Calciuminjektion sehen wir an parathyreoipriven wie an normalen Tieren eine deutliche Tendenz zur verstärkten Reaktion der alkalischen Phosphatase. Auf das hohe Calciumangebot reagiert die Niere mit verstärkter Ausscheidung, die in Form des Calciumphosphates erfolgt. Das ist gleichbedeutend mit einer vermehrten Phosphatausscheidung, wodurch die Phosphorsäuren der Esterbildung entzogen werden, um für die Calciumausscheidung zur Verfügung zu stehen. Die Phosphorylierungsprozesse treten in den Hintergrund, die Phosphatasen im eigentlichen Sinne aber stärker hervor. Sie sind histochemisch vermehrt nachzuweisen. Dieses Beispiel würde die Verschiebung des Fermentgleichgewichtes durch chemische Einflüsse aufzeigen.

Wir sind uns darüber im klaren, daß *die eben erläuterten Vorstellungen* im wesentlichen *eine Arbeitstheorie* darstellen. Sie erlaubt uns aber die

vorliegenden Befunde zu deuten und sie in Übereinstimmung mit den Ansichten von Harrison u. Harrison[41] zu bringen, die zeigten, daß das Parathormon die Rückresorption der Phosphate in den Tubuli beeinflußt, bzw. hemmt. Es würde sich *nach unserer Ansicht nicht um eine Hemmung der Fermenttätigkeit* im üblichen Sinne, sondern *um eine einseitige Verschiebung des Fermentsystems und seiner Funktion handeln.* Wir denken dabei vor allem an eine innere Umlagerung der Fermente im Sinne der Cofermentwanderung von Albers[61], wobei das Parathormon als Trägerbestandteil, als Apophosphatase eine Rolle spielen dürfte. Damit erhalten wir gleichzeitig eine Vorstellung, wie das Hormon in den örtlichen Fermentstoffwechsel eingreift und auf diese Weise seine gezielte Wirkung entfaltet.

Das Ergebnis der direkten Hormonwirkung auf das Nierengewebe im Modellversuch läßt sich allerdings nicht ohne weiteres mit dieser Theorie in Einklang bringen. Durch den Zusatz von Hormon trat eine Abschwächung der Fermentreaktion ein, wo doch nach dem Ergebnis am lebenden Tier eine Zunahme zu erwarten war. Man muß aber wohl berücksichtigen, daß die Bedingungen einer solchen Versuchsanordnung ganz andere als die beim lebenden Tier sind und man deshalb dem Ausfall des Versuches zunächst in dieser Beziehung kein solches Gewicht beimessen sollte.

Von weit größerer Bedeutung erscheint die Tatsache, daß es überhaupt gelungen ist, die Fermentreaktion im Nierengewebe durch direkte Wirkung des Parathormons zu beeinflussen. Denn der Ausfall des Versuches gibt uns einen Hinweis, daß das EK-Hormon von sich aus imstande ist in das Spiel der Fermentreaktionen der Niere einzugreifen, und stützt darüber hinaus die Voraussetzung, auf der wir unsere Theorie vom Zusammenwirken des EK-Hormons mit den Phosphatasen der Niere aufbauten.

Experimenteller Teil.

Für unsere Versuche benutzten wir Ratten von 100 bis etwa 200 g. Zur Auswertung kamen etwa 50 Tiere. Bei den meisten wurden die EK herausgenommen. Zur Technik der Nebenschilddrüsenexstirpation verweisen wir auf die obigen Ausführungen. Die Ratten wurden nach dem Versuch durch Nackenschlag getötet, die Niere herausgenommen und das Material sofort für die histologische Bestimmung der alkalischen und sauren Phosphatase aufgearbeitet. Wir führten die Reaktion zunächst gleichzeitig am unfixierten wie am nativ geschnittenen, aber mit Alkohol fixierten Gefrierschnitt durch und stellten dabei fest, daß die fixierten Schnitte an der Niere bessere Bilder gaben. Vor allem ließen sich dadurch die Niederschläge bei der sauren Phosphatase auf ein erträgliches Maß reduzieren. Fixierung für die alkalische Phosphatase 15 min in 80%igem Alkohol, für die saure 15 min in Aceton. Als günstigste Bebrütungszeit ergab sich für die erstere 15 min, für die letztere 3 Std.

a) Vorversuche.

Um einen Überblick zu bekommen, wurden 12 Ratten die EK exstirpiert und die Tiere nach 1, 2 und 3 Tagen getötet. Nach der histologischen Kontrolle fand

sich bei 3 Tieren eine zurückgebliebene Nebenschilddrüse. Diese Ratten bildeten zusammen mit 5 nicht operierten das Vergleichsmaterial.

Wir wählten deshalb die kurze Versuchsdauer von 2—3 Tagen, weil die manifeste Tetanie als Ausdruck der gelungenen Exstirpation etwa 6—7 Std nach der Operation auftritt und dann, wenn die Tiere den Eingriff überleben, 1—2 Tage deutlich nachweisbar bleibt. Darüber hinaus verschwindet sie wieder. Es stand deshalb zu erwarten, daß an der Niere am ehesten Veränderungen auftraten, solange noch die Störungen des Mineralhaushaltes sich am deutlichsten manifestierten. Diese Ansicht findet ihre Bestätigung in den oben zitierten Untersuchungen von TWEEDY u. Mitarb.[40].

Der histologische Vergleich der 8 Kontrolltiere mit den 9 Versuchstieren zeigte, daß nach gelungener Operation die Phosphatasereaktion nicht mehr so stark ausfiel.

b) 1. Versuchsreihe.

Um eindeutige Vergleichsmöglichkeiten zu erhalten, gingen wir nun so vor, daß wir zugleich mit den EK eine Niere entfernten und von dieser sofort die Phosphatasereaktion ausführten. Als Versuchsdauer wählten wir wieder auf Grund der obigen Überlegungen und der Ergebnisse des Vorversuches 2 Tage. Von den operierten Tieren zeigte die histologische Kontrolle der Halsorgane in 3 Fällen eine mißlungene Operation. Diese Tiere wurden wieder als Kontrollen benutzt und dazu noch 4 weitere, denen nur eine Niere entfernt, die EK aber belassen wurden.

Das histologische Bild der Niere vor und nach dem Versuch wurde miteinander verglichen und tabellarisch festgelegt. Wir beschränkten uns darauf, eine deutliche Ab- oder Zunahme am selben Tier zu notieren, da wir es auf Grund unserer früheren ausgedehnten Untersuchungen am Beispiel des Glykogens[66, 67] zur quantitativen Mengenbestimmung aus dem histologischen Schnitt für abwegig halten, feinere mengenmäßige Unterschiede zu machen.

Tabelle 1. *Kontrollen.*

Tiere	Blut-calcium mg %	Alkalische Phosphatase	Saure Phosphatase	
			Tubuli	Glomeruli
EK 17	9,0	leichte Zunahme	Zunahme	Abnahme
EK 25	—	kein Unterschied	leichte Abnahme	Abnahme
EK 27	—	kein Unterschied	kein Unterschied	Abnahme
EK 35	—	Zunahme	kein Unterschied	Abnahme
EK 36	—	leichte Zunahme	kein Unterschied	kein Unterschied
EK 37	—	leichte Zunahme	kein Unterschied	kein Unterschied
EK 38	—	kein Unterschied	kein Unterschied	Abnahme

Tabelle 2. *Versuchstiere mit gelungener EK-Exstirpation.*

Tiere	Blut-calcium mg %	Alkalische Phosphatase	Saure Phosphatase	
			Tubuli	Glomeruli
EK 20	4,6	deutliche Abnahme	Abnahme	kein Unterschied
EK 21	5,8	deutliche Abnahme	Abnahme	kein Unterschied
EK 22	6,0	beträchtl. Abnahme	Abnahme	kein Unterschied
EK 23	8,5	beträchtl. Abnahme	kein Unterschied	kein Unterschied
EK 24	—	deutliche Abnahme	kein Unterschied	kein Unterschied
EK 26	—	beträchtl. Abnahme	Abnahme	kein Unterschied
EK 28	—	beträchtl. Abnahme	Abnahme	Abnahme
EK 30	—	mäßige Zunahme	kein Unterschied	Abnahme

c) 2. Versuchsreihe.

Nun versuchten wir die Wirkung der EK-Exstirpation durch nachträgliche Injektion von Parathormon zu kompensieren. (Die notwendigen Versuchsmengen des Hormons wurden in dankenswerter Weise von der Hormon-Chemie, München zur Verfügung gestellt.) Wir gingen dabei so vor, daß wir zunächst die EK entfernten, dann die Wirkung des Eingriffes abwarteten (etwa 2 Tage), nun eine Niere herausnahmen und zugleich Parathormon intraperitoneal verabreichten. Die Tiere wurden zum Teil nach 10 Std, zum Teil nach 1 2 Tagen getötet. Die Wirkung des Hormons wurde in den Fällen, wo eine Calciumbestimmung möglich war, auch nach dieser Richtung hin kontrolliert, dabei aber in Übereinstimmung mit den früheren Untersuchern[40, 42] festgestellt, daß bei Ratten viel höhere Dosen zur Erhöhung des Calciumspiegels notwendig sind, als wir sie anwandten.

Tabelle 3. *Tiere nach EK-Exstirpation und Parathormongaben.*

Tiere	Zeit n. EK-Exstirpation Tage	Zeit n. Parathyreoidektomie Std	Hormon Einheit.	Blutcalcium mg %	Alkalische Phosphatase	Saure Phosphatase	
						Tubuli	Glomeruli
EK 13	2	12	20	—	Zunahme	k. Untersch.	k. Untersch.
EK 14	2	12	20	5,5	leichte Abn.	Abnahme	Abnahme
EK 15	2	12	20	5,7	Zunahme	Zunahme	Abnahme
EK 16	2	12	20	8,1	Zunahme	Zunahme	Zunahme
EK 31	3	24	2×20	4,4	k. Untersch.	Abnahme	k. Untersch.
EK 32	3	24	2×20	4,8	leichte Abn.	k. Untersch.	Abnahme
EK 33	3	24	2×20	7,0	k. Untersch.	Zunahme	k. Untersch.
EK 34	3	24	2×30	4,8	k. Untersch.	Zunahme	Abnahme
EK 45	2	48	40	8,4	leichte Abn.	k. Untersch.	k. Untersch.
EK 48	1	48	40	—	k. Untersch.	k. Untersch.	k. Untersch.
Tier mit mißglückter Operation							
EK 46	2	48	40	7,0	leichte Abn.	k. Untersch.	k. Untersch.
EK 47	1	10	40	7,7	k. Untersch.	k. Untersch.	k. Untersch.

d) 3. Versuchsreihe.

Der Versuch wurde in derselben Weise durchgeführt wie der vorhergehende. Wir injizierten nur jetzt anstelle des Hormons Calcium subcutan. Diese Versuche sollten uns lediglich zur Kontrolle dienen. Für die Injektion benutzten wir Calciumgluconat.

Tabelle 4. *Tiere nach EK-Exstirpation und Calciumgaben.*

Tiere	Zeit n. EK-Exstirpation Tage	Zeit n. Calciumgabe	Injizierte Calciummenge cm^3	Blutcalcium mg %	Alkalische Phosphatase	Saure Phosphatase	
						Tubuli	Glomeruli
EK 40	2	1	2×1,5	—	Zunahme	k. Untersch.	k. Untersch.
EK 41	2	1	2×1,5	—	k. Untersch.	k. Untersch.	Zunahme
EK 42	2	1	2×1,5	—	Zunahme	k. Untersch.	Zunahme
EK 44	2	1	2×1,5	—	Abnahme	k. Untersch.	k. Untersch.
EK 49	1	1	3	8,1	k. Untersch.	Zunahme	k. Untersch.
Tier nach mißglückter Operation							
EK 43	2	1	2×1,5	—	Zunahme	Zunahme	Abnahme
EK 50	1	1	3	—	Zunahme	Abnahme	k. Untersch.

e) Modellversuch.

Dazu wurden *unfixierte* Nierenschnitte 15 min lang bebrütet. Ein Teil der Schnitte wurde mit Parathormon angefeuchtet und dann sofort in die Bebrütungslösung gestellt, der auf 50 cm^3 40 EH Parathormon zugegeben waren. Ergebnis siehe beiliegende Abbildung zu diesem Versuch.

Zusammenfassung.

1. Nach Entfernung der Nebenschilddrüsen findet man an den Nieren von Ratten histochemisch eine beträchtliche Abnahme der alkalischen Phosphatase, eine geringere der sauren.

2. Durch zusätzliche Injektion von Parathormon läßt sich dieser Schwund der Phosphatasereaktion aufhalten, mitunter eine Zunahme erreichen.

3. Calciuminjektionen haben einen ähnlichen Effekt.

4. Durch direkte Einwirkung von Parathormon auf den nativen unfixierten Nierengewebsschnitt kann man eine Änderung der Reaktion auf alkalische Phosphatase erzielen.

5. Es wird im Rahmen unserer heutigen Kenntnisse und an Hand der vorliegenden Ergebnisse ein Erklärungsversuch gegeben, in welcher Weise das Parathormon auf die Phosphatasen der Nieren wirkt. Es wird angenommen, daß das Parathormon die Wirksamkeit des „Phosphatasekomplexes" der Niere sowohl nach der Seite der Synthese wie der Hydrolyse verschieben kann und auf diese Weise seinen örtlichen Einfluß ausübt.

Literatur.

[1] Mc Callum, W. G.: Bull. Hopkins Hosp. **16**, 87 (1905). — [2] Hubbard, R. S., u. I. A. Wentworth: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **18**, 307 (1921). — [3] Herbert, F. K., H. G. Miller, u. G. O. Richardson: J. of Path. **53**, 161 (1941). — [4] Eger, W.: Frankf. Z. Path. **56**, 369 (1942). — [5] Snapper, I.: Acta med. scand. (Stockh.) **103**, 321 (1940). — [6] Richards, D. G. B.: Brit. med. J. (1951) S. 167. — [7] Bergstrand, H.: Acta med. scand. (Stockh.) **54**, 539 (1920). — [8] Gilmour, I. R., u. W. J. Martin: J. of Path. **44**, 431 (1937). — [9] Ohntrup, H.: Beitr. path. Anat. **105**, 489 (1941). — [10] Wernly, M. u. C. Berdjis: Helvet. med. Acta **13** suppl. (1946). — [11] Pappenheimer, A. M., u. S. L. Wilens: Amer. J. Path. **11**, 73 (1935). — [12] Albright, F., u. F. C. Reifenstein: The Parathyroid Glands a. Metabolic Bone Disease. Baltimore: The Williams a. Wilkins Company. 1948. — [13] Fritz, G. F., u. O. A. Birnes: Amer. J. Path. **27**, 265 (1951). — [14] Castleman, B., u. T. B. Mallory: Amer. J. Path. **11**, 1 (1935) u. **12**, 553 (1937). — [15] Bell, E. T.: Textbook of Path. **5**, 754 (1944). — [16] Norris, E. H.: Arch. of Path. **41**, 661 (1946). — [17] Jariett, W. A., H. L. Peters, u. A. M. Pappenheimer: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **32**, 1211 (1935). — [18] Rutishauser, E.: Ann. d'Anat. path. **13** (1936). — [19] Donohue, W., Ch. Spingarn, u. A. M. Pappenheimer: J. of Exper. Med. **66**, 694 (1937). — [20] Eger, W.: Beitr. path. Anat. **100**, 19 (1938). — [21] Highman, W. J., u. B. Hamilton: Arch. of Path. **26**, 129 (1938). — [22] Pappenheimer, A. M., u. J. W. Johnson: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **38**, 777 (1938). — [23] Becher, E.: Nierenkrankheiten. Jena: Fischer 1944. — [24] Martin, E., u. E. Rutishauser: Bull. Acad. suisses sc. méd. **2**, 1 (1946). — [25] Bartelheimer, H.: Berl. Med. Z.

25/26 (1950). — [26] Katase: Einfluß d. Ernährung a. d. Konst. der Org. Berlin: Urban u. Schwarzenberg 1931. — [27] Luce, E. M.: J. of Path. **26**, 200 (1923). — [28] Marine, D.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **11**, 117 (1913/14). — [29] Soetbeer, F.: Hoppe-Seylers Z. **35**, 85 (1902). — [30] Feigl, J.: Biochem. Z. **81**, 380 (1917). — [31] Mariot, A. M., u. G. M. Haesler: J. of Biol. Chem. **32**, 241 (1919). — [32] Denis, W., u. J. Hobson: J. of Biol. Chem. **55**, 183 (1923). — [33] Loeschke, A.: Mschr. Kinderheilk. **78**, 208 (1939). — [34] Grasheim, K., u. E. Lukas: Z. klin. Med. **107**, 172 (1920). — [35] Drake, T. G., F. Albright, u. B. Castleman: J. Clin. Invest. **26**, 203 (1937). — [36] Grosse-Brockhoff, F.: Pathologische Physiologie. Berlin: Springer 1951. — [37] Hunter, D.: Lancet **1930**, 1005. — [38] Aub, J. C.: Die Drüsen mit inn. Sekretion. Wien-Leipzig: Äskulap-Verlag 1937. — [39] Davies, B. M. A.: 2nd Int. Congr. Biochem. **1952**, 50. — [40] Tweedy, W. R., M. E. Chilcote, u. M. C. Patras: J. of Biol. Chem. **168**, 597 (1947). — [41] Tweedy, W. R., u. W. W. Campbell: J. of Biol. Chem. **154**, 339 (1944). — [42] Stoerk, H. C., u. R. H. Silber: Fed. Proc. **8**, 371 (1949). — [43] Brüll, L., u. G. Carbonescu: C. r. Soc. Biol. Paris **131**, 800 (1938). — [44] Harrison, H. E., u. H. C. Harrison: J. Clin. Invest. **20**, 47 (1941). — [45] Fay, M., V. G. Behrmann, u. D. M. Buck: Amer. J. Physiol. **136**, 716 (1942). — [46] Jahan, I., u. R. F. Pitts: Amer. J. Physiol. **155**, 42 (1938). — [47] Gomori, G.: Amer. J. Clin. Path. **16**, 347 (1946). — [48] Eger, W.: Mschr. Kinderheilk. **90**, 83 (1942). — [49] Feyrter, F.: Über die Pathologie der vegetativen nervösen Peripherie und der ganglionären Regulationsstätten. S. 183—185. Wien: Wilhelm Maudrich. 1951. — [50] Neumann, K.: Z. Mikrosk. **60**, 449 (1952). — [51] Eger, W., u. H. Geller: Virchows Arch. **321** (i. Ersch.). — [52] Lison, L.: Bull. Histol. appl. **2**, 23 (1948). — [53] Gomori, G.: J. Cell. Comp. Physiol. **17**, 71 (1941). — [54] Bourne, G. H.: Quart. J. exper. Physiol. **32**, 1 (1943). — [55] Kabat, E. A., u. J. Furth: Amer. J. Physiol. **17**, 303 (1941). — [56] Neumann, K.: Verh. Anat. Ges. Kiel **1951**, S. 165. — [57] Moog, F.: Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. **21**, 41 (1946). — [58] Dragoni, G.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **27**, 637 (1951). — [59] Frank, E.: Med. Welt **1951**, S. 403. — [60] Folley, S. J., u. H. D. Kay: Ergebn. Enzymforsch. **5**, 159 (1936). — [61] Albers, H.: Handbuch d. Enzymologie **1**, 408 (1940). — [62] Lipman, F.: Adc. Enzymol. **1**, 99 (1941). — [63] Ammon, R., u. W. Dirscherl: Fermente, Vitamine, Hormone. 2. Aufl. Leipzig: G. Thieme 1948. — [64] Lehnartz, E.: Chemische Physiologie. 7. Aufl. Berlin-Heidelberg: Springer 1947. — [65] Gremels, H.: in Becher, Nierenkrankheiten. Jena: Fischer 1944. — [66] Eger, W.: Virchows Arch. **315**, 147 (1948). — Ärztl. Forsch. **1950**, S. 349. — Frankf. Z. Path. **62**, 55 (1951). — Med. Mschr. **1952**, S. 363. — [67] Eger, W.: Virchows Arch. **315**, 135 (1948). — [68] Eger, W., u. Ch. Klärner: Virchows Arch. **315**, 135 (1948).

Dozent Dr. W. Eger, Patholog. Institut der Universität Göttingen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 239—250 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. B. Behrens).

Sind Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin drei verschiedene Stoffe oder nur die Wirkungskomponenten eines einzigen Hormon-Moleküls?

Von
Gerhard Zetler.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. November 1952.)

Seit mehr als 20 Jahren ist die Frage offen, ob die Wirkungen von Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin einem einzigen Molekül oder 3 verschiedenen Stoffen zuzuschreiben sind; die Geschichte dieser biochemischen Streitfrage haben Schaumann[1] sowie Stehle[2] bis zum Jahre 1937 ausführlich dargestellt. Seitdem gelang es Du Vigneaud[3,4,5], Vasopressin-Adiuretin und Oxytocin dadurch voneinander zu trennen, daß beide Komponenten verschieden schnell zur Kathode wandern; eine Trennung gelang auch Potts u. Gallagher[6] durch fraktionierte Adsorption an Permutit. van Dyke[7] wandte allerdings ein, daß auch diese „milden" biochemischen Methoden noch nicht ausschließen, daß in vivo ein einheitliches Grundmolekül vorliegt, und bemühte sich, dieses Muttermolekül mit größter Vorsicht zu isolieren. Er stimmt mit Rosenfeld (zit. n. van Dyke[7]) überein, der mittels Ultrazentrifugierung frischer Preßsäfte aus Hypophysenhinterlappen fand, daß Oxytocin und Vasopressin Wirkungskomponenten eines großen Moleküls sein müssen, das durch Erhitzen bei p_H 4 in zwei Teile zerfällt. Haselbach u. Piquet[42] nehmen auf Grund ihrer Versuche an, daß beim Aufbau des Muttermoleküls nicht chemische Bindungen, sondern elektrostatische Kräfte eine Rolle spielen. Obwohl inzwischen Du Vigneaud[8–13] nachwies, daß Oxytocin und Vasopressin-Adiuretin Polypeptide sind, mit Hilfe der Papierchromatographie ihre Aminosäure-Bausteine ermittelte und Bruttoformeln aufstellte, ist der Streit noch nicht beendet; denn mit den jetzigen Methoden ist nicht zu entscheiden, ob in der Neurohypophyse das Muttermolekül oder die drei Splittersubstanzen vorliegen, und in welcher dieser beiden Formen die Wirkstoffe in die Blutbahn abgegeben werden (Stehle[18]; Block u. van Dyke[40]). Zwar ist es bisher nicht gelungen, durch die oben erwähnten „milden" Maßnahmen Vasopressin von Adiuretin zu trennen, doch scheint dies durch stärkere chemische Eingriffe möglich zu sein (Kamm, Grote u.

Rowe[14]). Nach Heller[15] lassen sich durch Erhitzen Extrakte herstellen, die nur noch antidiuretisch, jedoch nicht mehr vasopressorisch wirken (bestätigt von Boyd u. Dingwall[16]). Es fehlt also auch der eindeutige biochemische Beweis für die Einheitlichkeit der Vasopressin-Adiuretin-Fraktion (Stehle[39]), obwohl Du Vigneaud[43] erst vor kurzem wieder diese Ansicht experimentell bekräftigte. Sogar van Dyke[7] mußte, obwohl er biochemisch scheinbar die Ein-Molekül-Theorie bewiesen hatte, zu den quantitativen Differenzen im Oxytocin- und Vasopressingehalt von Wal-Neurohypophysen (siehe Seite 241) schreiben: "... such findings ... speak against rather than in favour of the belief that both activities are part of one molecule".

Trotz aller Fortschritte auf diesem Gebiete sind die biochemischen Ergebnisse seit Jahren so widersprechend, daß Heller[17] und Stehle[18] empfohlen haben, ungeachtet der biochemischen Problematik quantitative Unterschiede zwischen den drei Komponenten stärker zu bewerten; *sollte es sich um einen einheitlichen Stoff handeln, so müßten die drei Komponenten eigentlich immer in konstantem Verhältnis vorhanden sein*, nach der dualistischen Theorie dürften jedenfalls Vasopressin und Adiuretin quantitativ nicht differieren. Heller[17] hob *zwei Fragen* als besonders wichtig hervor: 1. Erstrecken sich die Auswirkungen eines adäquaten physiologischen Reizes auf alle drei Komponenten in gleichem Maße? 2. Können die einzelnen Komponenten in vivo (bei verschiedenen Spezies) in differenten Mengen auftreten? Aus folgenden Gründen können wir den beiden Fragen Hellers[17] noch eine dritte anfügen:

Wir hatten gefunden, daß Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin nicht nur in der Neurohypophyse, sondern auch in den Nuclei supraoptici und paraventriculares des vorderen Hypothalamus sowie im Bereich der Faserverbindung dieser Gebiete mit der Neurohypophyse, dem Tractus supraoptico-hypophyseus vorkommen; dies konnten wir für Hund[19], Schwein und Rind[20] sowie für den Menschen[21] zeigen. Die Fundstätten der Hormone lassen ihre Zusammengehörigkeit auch morphologisch dadurch erkennen, daß sie histologisch elektiv darstellbares „Neurosekret" enthalten (Bargmann[22]), dessen Menge nach allen unseren Befunden etwa der mittleren Hormonmenge proportional ist; gleichwohl handelt es sich dabei nicht um die Hormone selbst, sondern um eine Art Trägersubstanz, die von den Hormonen auf einfache Weise quantitativ abgetrennt werden kann[23, 24]. Schließlich konnten wir durch Kombination von Entwässerung der Versuchstiere[32] mit operativer Unterbrechung des Tractus supraoptico-hypophyseus beweisen, daß Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin nicht in der Neurohypophyse, sondern in den Nuclei supraoptici und paraventriculares gebildet werden[25]; auf dem Wege des Tractus supraoptico-hypophyseus gelangen sie vom Zwischenhirn in die Neurohypophyse, die damit nur noch ein Speicher- und

Ausscheidungsorgan für die Hormone ist. Auf diese Befunde gegründet soll die oben angekündigte *dritte Frage* lauten: Sind die quantitativen Beziehungen zwischen den einzelnen Komponenten in der Neurohypophyse die gleichen wie in den verschiedenen hypothalamischen Anteilen des Zwischenhirn-Neurohypophysensystems? Im Rahmen der Diskussion werden wir kritisch abwägen, wieweit die Beantwortung dieser Fragen bindende Schlußfolgerungen erlaubt.

Das in unseren zitierten Arbeiten veröffentlichte pharmakologische Zahlenmaterial ist bisher nicht in dem skizzierten Sinne ausgewertet worden (die Versuchsmethodik ist in den Arbeiten eingehend geschildert). Da sich gezeigt hat, daß mittels jener Ergebnisse die drei oben gestellten Fragen beantwortet werden können, scheint die Publikation einer speziellen kritischen Auswertung aller unserer bisherigen pharmakologischen Befunde gerechtfertigt; denn nach Stehle[18] berührt die Frage nach der Natur von Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin „one of the most important gaps in chemical endocrinology".

Ergebnisse.

Abb. 1 zeigt, in welchen quantitativen Beziehungen Adiuretin und Oxytocin zum jeweiligen Vasopressingehalt der einzelnen Extrakte aus Neurohypophyse und Hypothalamus von verschiedenen Spezies stehen. Adiuretin bleibt in der Neurohypophyse regelmäßig hinter Vasopressin zurück; diese Unterschiede sind nur angedeutet vorhanden (leider schließt diese Betrachtungsweise aus technischen Gründen eine statistische Sicherung der Ergebnisse aus). Oxytocin findet sich jedoch bei Hund und Rind eindeutig in weit geringerer Menge (30—35%) als Vasopressin und Adiuretin; bei Schwein und Mensch dagegen liegt Oxytocin auf der Höhe von Adiuretin. Unsere Befunde widersprechen denen von McClosky, Miller u. le Messurier[26], die beim Rind in der Neurohypophyse gleiche Mengen aller drei Komponenten nachwiesen. Dagegen fanden diese Autoren ebenso wie Geiling, Tarr u. Tarr[27], daß die Neurohypophysen der Wale zwar gleich viel Adiuretin und Vasopressin, jedoch nur sehr geringe Mengen Oxytocin aufweisen (beim Pottwal bis zu 8—10% der Vasopressinmenge). Nach Kuschinsky u. Liebert[28] enthalten Rattenhypophysen etwa doppelt so viel Vasopressin wie Oxytocin. — Im Hypothalamus stehen bei Hund und Rind die drei Komponenten in den gleichen quantitativen Beziehungen zueinander wie in der Neurohypophyse. Im Gegensatz dazu enthalten die Hypothalami von Schwein und Mensch einen etwa im gleichen Ausmaß verringerten Adiuretin-Anteil (etwa 50% der Vasopressinmenge); Oxytocin zeigt beim Schwein im Zwischenhirn abnehmende Tendenz, übersteigt beim Menschen jedoch den Vasopressinwert. *Im Hypothalamus können also andere Relationen herrschen als in der Neurohypophyse*; in

beiden Hirnabschnitten zeigen sich Unterschiede zwischen einzelnen Säugetierspezies. — Ebenso wie Heller u. Zaimis[38] fanden wir keine quantitative Divergenz zwischen Oxytocin und Adiuretin in der Neurohypophyse des Menschen, wohl aber im Zwischenhirn (Abb. 1).

Der wichtige Befund, daß auch die Adiuretin- und Vasopressinmengen differieren können, wird bei der Betrachtung individueller Verhältnisse beim Menschen besonders deutlich. Beim Hund schwanken die quantitativen Beziehungen zwischen den drei Komponenten in den einzelnen Hirnpartien zwar ebenfalls, doch sind die Unterschiede zwischen den Individuen nicht so ausgeprägt wie beim Menschen; dies mag daran

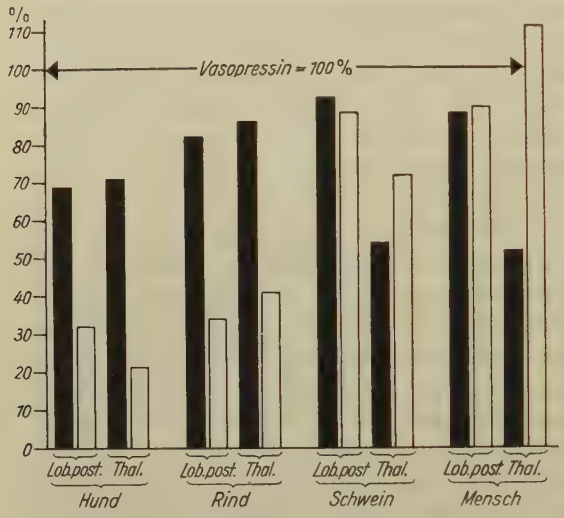


Abb. 1. Relative Mengen an Adiuretin (schwarze Säulen) und Oxytocin (weiße Säulen), ausgedrückt als Prozentsatz der jeweils im gleichen Extrakt vorhandenen Vasopressinmenge; es handelt sich bei Hund, Schwein und Rind sowie bei den menschlichen Hypothalami um Mittelwerte aus je 10 Einzelwerten, bei den menschlichen Neurohypophysen aus 8 Einzelwerten. *Lob. post.* Neurohypophyse; *Thal.* Vord. Hypothalamus.

liegen, daß das tierische Material im Gegensatz zum humanen „normal" ist (vgl. Hild u. Zetler[21]). Aus den 10 von uns untersuchten menschlichen Gehirnen haben wir drei extreme Fälle ausgewählt und in Tab. 1 zusammengestellt. Die beiden letzten Kolumnen der Tabelle zeigen, daß in der Neurohypophyse gleichviel aber auch doppelt so viel Adiuretin wie Vasopressin vorhanden sein kann. Gehirn Nr. 3 ist deshalb interessant, weil hier Oxytocin und Vasopressin im Hypothalamus und in der Neurohypophyse im gleichen quantitativen Verhältnis stehen; dies gilt jedoch nicht für Vasopressin und Adiuretin: Die Neurohypophyse enthält doppelt so viel Adiuretin wie Vasopressin, der Hypothalamus dagegen 6—7 mal so viel Vasopressin wie Adiuretin. *Beim gleichen Individuum können also die einzelnen Komponenten in den verschiedenen Hirnabschnitten in differenten quantitativen Verhältnissen erscheinen.* Besonders bemerkenswert ist Gehirn Nr. 6, weil hier im Hypothalamus 20 mal mehr Vasopressin als Adiuretin vorkommt und damit beide Komponenten quantitativ außerordentlich auseinanderweichen.

Tab. 1. *Hormongehalt von Neurohypophyse und Hypothalamus in I.E. pro Organ (menschliches Material).*

Gehirn Nr.	Organ	Vasopressin	Adiuretin	Oxytocin	Vasopressin / Adiuretin	Vasopressin / Oxytocin
1	Neurohyp.	8,00	8,00	10,80	1,00	0,74
	Hypothal.	0,129	0,166	0,480	0,78	0,27
3	Neurohyp.	0,88	1,76	1,80	0,50	0,49
	Hypothal.	0,120	0,018	0,251	6,67	0,48
6*	Hypothal.	0,16	0,008	0,034	20,00	4,70

* Von Fall 6 wurde durch ein technisches Versehen die Hypophyse leider nur histologisch untersucht!

Wie Heller[17] erwartete, führte die Anwendung eines für den Hypophysenhinterlappen adäquaten Reizes zu weiteren Erkenntnissen; ein solcher Reiz ist für das gesamte Zwischenhirn-Neurohypophysensystem die Dehydration des Organismus (Literat. bei Hild u. Zetler[25]). Wir[25, 32] ließen etwa 20 bis 30 kg schwere Schäferhunde und Schäferhundmischlinge 8 und 14 Tage lang dursten und sich danach verschieden lang erholen (Wasser ad libitum). Zu verschiedenen Zeitpunkten dieser Versuche ermittelten wir bei jedem Tier den Hormongehalt und das histologische Bild der Neurohypophyse, des Tractus supraoptico-hypophyseus (im Tuber cinereum) sowie der Nuclei supraoptici und paraventriculares. Abb. 2 bezieht sich auf die Neurohypophyse und zeigt, daß dieses Organ beim Dursten an allen drei Komponenten verarmt (qualitative Übereinstimmung mit den kurzfristigen Versuchen von Simon und Kardos[29], Kuschinsky[30], Kuschinsky u. Liebert[28] sowie Liebert[31]), in der Erholungspause erfolgt eine erneute Anreicherung der Wirkstoffe im Hypophysenhinterlappen. Gleichgerichtete Bewegungen zeigen die Hormonwerte auch in den hypothalamischen Teilen des Zwischenhirn-Neurohypophysensystems, allerdings mit einer auffallenden Verzögerung gegenüber

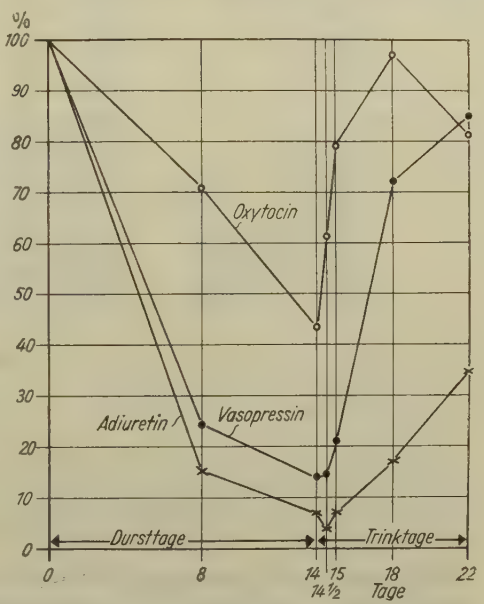


Abb. 2. Auswirkung des Durstes und der daran anschließenden Erholung auf die Hormonmengen in den Neurohypophysen von 70 Schäferhunden in Prozenten der Norm. Jeder Punkt ist der Mittelwert aus je 10 Einzelwerten. Ordinate: Hormongehalt in Prozent der Norm; Abszisse: Anzahl der Versuchstage.

der Neurohypophyse in beiden Richtungen (Einzelheiten sowie Deutung dieses Befundes bei Zetler[32] sowie Hild u. Zetler[25]). *Der ädaquate Reiz betrifft zwar alle drei Hormon-Komponenten, Adiuretin verschwindet jedoch aus der Neurohypophyse am schnellsten, Oxytocin am langsamsten*; während des Durstens nimmt Oxytocin nur bis auf 43 % der Norm ab, Vasopressin sinkt bis auf 14 %, Adiuretin bis auf 7 % der Norm. Die erneute Anreicherung der Hormone im Zwischenhirn-Neurohypophysensystem im Verlaufe der Erholungsphase geht umgekehrt bei Adiuretin am langsamsten und bei Oxytocin am schnellsten vonstatten; dabei wird das Auseinanderweichen der Adiuretin- und Vasopressinwerte

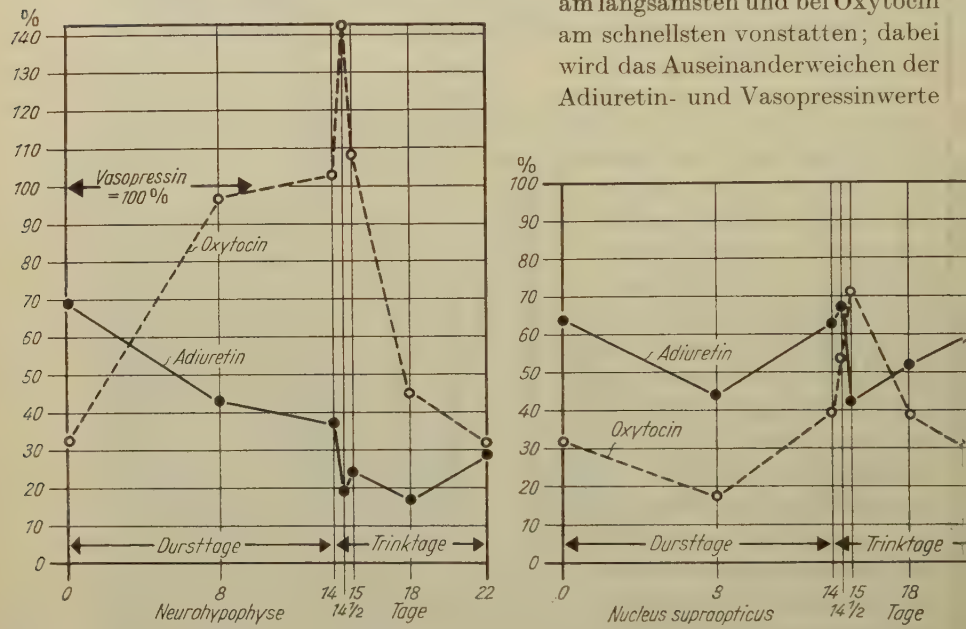


Abb. 3. Auswirkung des Durstens und der daran anschließenden Erholung auf die quantitativen Beziehungen zwischen den 3 Hormonkomponenten in Neurohypophyse und Nucleus supraopticus des Hundes. Relative Mengen an Adiuretin und Oxytocin, ausgedrückt als Prozentsatz der jeweils im gleichen Extrakt vorhand. Vasopressinmenge. Jeder Punkt ist Mittelwert aus je 10 Einzelwerten.

besonders deutlich nach 4 und 8 Erholungstagen (18. und 22. Versuchstag der Abb. 2). — Vielleicht der interessanteste Abschnitt des gesamten Versuches ist der Zeitpunkt der 12stündigen Erholung nach 14 Tage langem Dursten. Während dieser 12 Std stieg in der Neurohypophyse Oxytocin von 43 % auf 61 % der Norm, Vasopressin änderte sich nicht (14 %), während Adiuretin weiterhin absank, um überhaupt erst jetzt seinen niedrigsten Wert zu erreichen (4 %). In allen übrigen Abschnitten des Versuches verhielten sich die drei Komponenten zwar quantitativ verschieden, jedoch qualitativ gleichsinnig; nach 12stündiger Erholung trat dagegen eine gegensinnige Bewegung der drei Wirkstoffe auf, die weitreichende Schlußfolgerungen erlauben dürfte (siehe Diskussion).

Bezieht man die Adiuretin- und Oxytocinwerte auf die in den jeweiligen Extrakten vorhandenen Vasopressinmengen (Abb. 3), so ergibt sich, daß sich die *Zusammensetzung des Adiuretin-Vasopressin-Oxytocin-Komplexes während des Durstens und der darauf folgenden Erholungsphase fortwährend ändert.* Dabei unterscheiden sich diese Änderungen in der Neurohypophyse eindeutig von denen in den einzelnen Teilen des Zwischenhirn-Neurohypophysensystems, z. B. im Nucleus supraopticus (Abb. 3). Wie Abb. 4 zeigt, lassen die quantitativen Beziehungen der drei Hormone zueinander in den 4 Abschnitten des Zwischenhirn-Neuro-

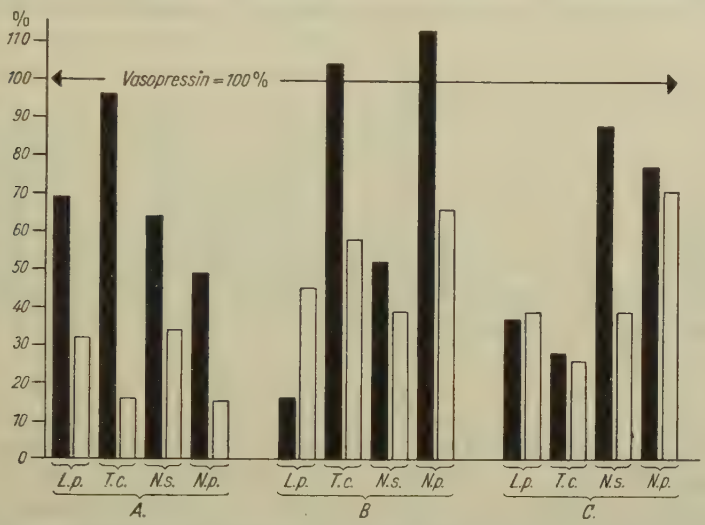


Abb. 4. Quantitative Beziehungen zwischen den 3 Hormonkomponenten in den einzelnen Abschnitten des Zwischenhirn-Neurohypophysensystems. Relative Mengen an Adiuretin (schwarze Säulen) und Oxytocin (weiße Säulen), ausgedrückt als Prozentsatz der jeweils in den gleichen Extrakten vorhandenen Vasopressinmenge. *L. p.* Neurohypophyse; *T. c.* Tuber cinereum (= Tractus supraoptico-hypophyseus); *N. s.* Nucleus supraopticus; *N. p.* Nucleus paraventricularis. *A* Normalwerte. *B* Werte nach 14tägigem Dursten mit anschließender 4tägiger Erholung. *C* Werte wie *B*, allerdings mit Hypophysenstieldurchtrennung nach 14 Dursttagen. Jeder Wert ist der Mittelwert aus je 10 Einzelwerten.

hypophysensystems keinerlei Rückschlüsse darauf zu, daß es sich bei Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin um ein einheitliches Molekül mit drei verschiedenen Wirkungskomponenten handelt; *es fehlt sogar jede konstante Beziehung zwischen Vasopressin und Adiuretin.* Auch die Durchtrennung des Tractus supraoptico-hypophyseus ändert daran nichts.

Mit Hilfe der Hypophysenstieldurchtrennung konnten wir[25] klar beweisen, daß *die drei Hormone im Zwischenhirn und nicht in der Neurohypophyse gebildet* werden (Abb. 5): Während im Hypophysenhinterlappen nach Hypophysenstieldurchtrennung keine Erholung vom Durst auftrat, stauten sich die drei Hormone (und das Neurosekret!) oberhalb der Schnittstelle, also im Tuber cinereum, zum Teil weit über die Norm

hinaus an; die Hormonmengen nahmen nach der Stieldurchtrennung auch in den hypothalamischen Kerngebieten gegenüber den nicht operierten Tieren zu (teilweise signifikant). Von größter Bedeutung für unser Problem ist, daß die *Anstauung im zentralen Stumpf des Tractus supraopticohypophyseus bei den einzelnen Hormonen verschieden stark* auftrat; *dadurch demonstrieren die drei Komponenten ihre gegenseitige Unabhängigkeit.* Auch in diesem Falle eilte Oxytocin weit voraus, Adiuretin zeigte die geringste Zunahme und unterschied sich quantitativ klar von Vasopressin.

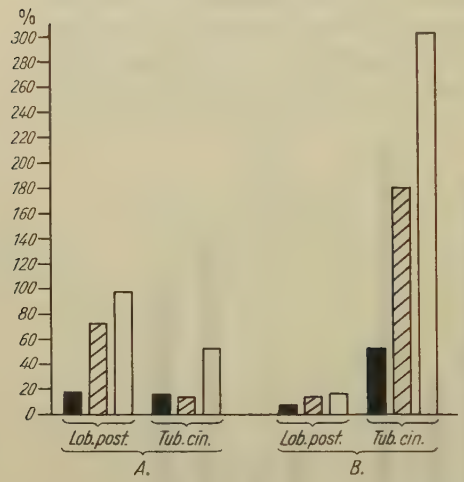


Abb. 5. Einfluß der Hypophysenstieldurchtrennung auf den Hormongehalt von Neurohypophyse (*Lob. post.*) und Tuber cinereum (*Tub. cin.*). Hormongehalt in Prozenten der Norm. Adiuretin: Schwarze Säulen; Vasopressin: Schraffierte Säulen; Oxytocin: Weiße Säulen. *A*: 4 Tage Erholung nach 14tägigem Dursten; *B*: Wie *A*, allerdings mit Hypophysenstieldurchtrennung nach 14 Dursttagen. Mittelwerte aus je 10 Einzelwerten.

Diskussion.

Die drei in der Einleitung gestellten Fragen können auf Grund der dargestellten Ergebnisse folgendermaßen beantwortet werden: 1. Bei verschiedenen Spezies stehen die drei Wirkungskomponenten in unterschiedlicher quantitativer Beziehung. 2. Dies gilt auch innerhalb einer Spezies für die Hormonmengen in den einzelnen Teilen des Zwischenhirn-Neurohypophysensystems; es existieren dabei sogar ausgeprägte individuelle Unterschiede. 3. Ein für das Zwischenhirn-Neurohypophysensystem adäquater Reiz (Dursten) betrifft zwar gleichzeitig Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin, ändert jedoch in Abhängigkeit von der Intensität des Reizes die quantitativen Beziehungen zwischen diesen drei Komponenten erheblich und in der den einzelnen Hirnpartien durchaus unterschiedlich. *Die völlige Regellosigkeit in den quantitativen Beziehungen zwischen Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin läßt nur den einen Schluß zu, daß diese Wirkungen zu drei echten, voneinander völlig unabhängigen existierenden Hormonen gehören* (siehe Ende der Diskussion!). Daß während des Durstens nicht nur ein erhöhter Bedarf des Organismus an Adiuretin sondern auch an den beiden anderen Hormonen eintritt, kann damit erklärt werden, daß Oxytocin und Vasopressin die Ausscheidung von Natrium, Kalium, und Chlor im Harn beeinflussen (Silvette[33], Schaumann u. Schmidt[3], Heller u. Stephenson[35], Sawyer[36]).

Es dürfte sehr bedeutungsvoll sein, daß während des Durstens in der Neurohypophyse Adiuretin am schnellsten und Oxytocin am langsamsten abnahmen, während in der Erholungsphase umgekehrt Adiuretin am langsamsten und Oxytocin am schnellsten der Norm zustrebten. Einmal spricht auch dies dafür, daß es sich um drei voneinander unabhängige Stoffe handelt. Zum anderen läßt diese Tatsache darauf schließen, daß entweder die drei Hormone bei gleich schnellem Antransport von den Produktionsstätten im Zwischenhirn verschieden schnell von der Neurohypophyse in die Blutbahn sezerniert werden, oder daß sie bei einheitlicher Sekretionsgeschwindigkeit verschieden schnell nachtransportiert werden; natürlich können auch beide Gründe gleichzeitig vorliegen. Unsere Versuchsergebnisse lassen hinsichtlich einer verschiedenen Sekretionsgeschwindigkeit seitens der Neurohypophyse höchstens Vermutungen zu; einen klaren *Beweis für einen verschieden schnellen Nachschub der Hormone aus dem Zwischenhirn* via Tractus supraoptico-hypophyseus geben jedoch unsere mittels Durchtrennung des Hypophysenstiels gewonnen Befunde (Abb. 5): Die drei Hormone stauten sich im zentralen Stumpf des Tractus supraoptico-hypophyseus entsprechend ihrer Strömungsgeschwindigkeit in verschieden starkem Maße an (es sei nur nebenbei erwähnt, daß mit diesen Versuchen auch gleichzeitig die *Strömungsrichtung* festgestellt und damit bewiesen wurde, wo die Hormone tatsächlich gebildet werden). Da aber auf der Höhe des Durstens, als der Hypophysenstiel durchtrennt wurde, die Zwischenhirngebiete völlig entspeichert waren (histologische Kontrolle!), muß dem verschieden schnellen Abtransport in die Neurohypophyse auch eine *verschieden schnelle Synthese der Hormone in den Nuclei supraoptici und paraventriculares* entsprechen! Die großzelligen *Nuclei des vorderen Hypothalamus produzieren also Adiuretin am langsamsten, Oxytocin am schnellsten, während Vasopressin etwa genau die Mitte hält.* Auch die gegensinnige Bewegungen der Hormonwerte in der Neurohypophyse nach 12stündiger Erholung deuten darauf hin, daß die drei Hormone unabhängig voneinander gebildet und ausgeschieden werden. Die eigenartigen quantitativen Verhältnisse in der Neurohypophyse während dieses Versuchsabschnittes lassen sich vielleicht demnach auf folgende Weise am einfachsten erklären: Bei einer angenommenen etwa gleich schnellen Absonderung aus der Neurohypophyse hält bei Vasopressin der Einstrom aus dem Hypothalamus der Hypophysensekretion die Waage, bei Adiuretin übertrifft die Ausfuhr noch den Nachschub des Hormons, der bei Oxytocin bereits größer ist als die Abgabe an die Blutbahn seitens der Neurohypophyse. Da bei der Geschwindigkeit der Abnahme der Hormone aus dem Hypophysenhinterlappen Vasopressin nicht ebenso wie bei der Anstauung der Hormone im zentralen Stumpf des durchschnittenen Tractus supraoptico-hypophyseus genau die Mitte zwischen Adiuretin und Oxytocin

hält, werden hier die drei Hormone vielleicht doch — wie schon vermutet — verschieden schnell sezerniert.

Falls Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin drei selbständige Hormone sein sollten, so wären Funktionszustände denkbar, unter denen nicht alle drei Hormone gleichzeitig sezerniert werden. Die Tatsache, daß sich Eingriffe in den Wasserhaushalt jedoch auf alle drei Komponenten zugleich auswirken, erlaubt damit noch nicht den Schluß — wie man nach Heller[17] (siehe oben) vielleicht annehmen könnte —, diese Hormone seien lediglich drei Wirkungskomponenten eines einheitlichen Moleküls oder aber im Rahmen ihrer Synthese und Sekretion zwangsläufig aneinander gebunden; denn Wasser- und Mineralhaushalt sind so untrennbar miteinander verknüpft, daß im Rahmen der Osmoregulation das an der tubulären Wasserrückresorption in den Nieren angreifende Adiuretin immer mit den Elektrolytregulatoren Vasopressin und Oxytocin zugleich in den Stoffwechsel eingreifen muß. Es ist deshalb notwendig, daß die zahlreichen Untersuchungen, die sich bisher mit dem Nachweis von Adiuretin und Vasopressin im Blut oder Harn unter tierexperimentellen oder human-pathologischen Bedingungen befassen, künftig auf alle drei Hormone gleichzeitig ausgedehnt werden; Oxytocin wurde bisher immer vernachlässigt, Vasopressin häufig nicht mit untersucht. Ferner möchten wir auf das Krankheitsbild der *Eklampsie* hinweisen (vgl. Hoffmann[37]; dort sowie bei Pickford[41] die einschlägige Literatur); hierbei soll bei den Ödempatientinnen nur Adiuretin, bei den Hypertoniefällen nur ein vasopressorischer Stoff im Blute erscheinen. Schließlich verdient die Frage nach dem Einfluß von Vasopressin und Oxytocin auf den Elektrolythaushalt weitaus stärkere Beachtung; dabei wäre es notwendig, genauer solche Extrakte zu untersuchen, die nur noch Vasopressin oder Adiuretin allein enthalten (siehe Einleitung).

Es ist klar, daß wir die Grenzen der Überlegungen, die wir in diesem Aufsatz anstellten, nicht verkennen: Unsere experimentellen pharmakologischen Ergebnisse erlauben nur indirekte Schlüsse auf die den beobachteten Wirkungen zugrundeliegenden Substanzen. Dies ist jedoch kein ungewöhnliches Vorgehen, wie die Geschichte der Erforschung zahlreicher körpereigener Wirkstoffe (z. B. der „Sympathine") zeigt. *Entscheidend ist, daß unsere Befunde nicht mit den gegenwärtigen biochemischen Ansichten* (siehe Anleitung) *übereinstimmen.* Wenn wir auch schließen müssen, daß drei verschiedene Hormone vorliegen, so glauben wir jedoch, daß diese drei Stoffe eng miteinander verwandt sein könnten. Denn einmal kommen sie, wenn auch offenbar quantitativ unabhängig voneinander, in allen Teilen des Zwischenhirn-Neurohypophysen-Systems immer vergesellschaftet vor; zum anderen besitzen sie trotz ihrer so verschiedenen Wirkungen die gleiche Trägersubstanz, die — wie unsere quantitativen Überlegungen zeigten[25] — keinem der drei Hormone allein zugesprochen

werden kann. Es ist im Rahmen unseres Problems ohne die Gefahr einschneidender Fehler möglich, pharmakologische Wirkungen quantitativ zu registrieren; im Gegensatz dazu bietet die biochemische Seite des Problems ungleich größere Schwierigkeiten, da es sich bei diesen Stoffen um Polypeptide handelt, von denen in diesem speziellen Falle offenbar nicht einmal genau bekannt ist, wieweit sie äußeren Einwirkungen gegenüber empfindlich sind (siehe Einleitung). Wir glauben deshalb, daß die Biochemie in diesen Fragen noch nicht das letzte Wort sprechen kann, und daß pharmakologische Befunde der geschilderten Art der Biochemie dieser Stoffe wichtige Hinweise geben können, die den Wert von Kriterien besitzen.

Zusammenfassung.

1. Die quantitativen Beziehungen zwischen Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin sind in Neurohypophyse und Hypothalamus einzelner Säugetierarten sehr verschieden; dies gilt auch für individuelle Schwankungen innerhalb einer Spezies.

2. In Neurohypophyse, Tractus supraoptico-hypophyseus, Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis können sehr unterschiedliche quantitative Relationen zwischen den drei Wirkstoffen herrschen.

3. Bei Belastung des Wasserhaushaltes ändern sich die quantitativen Beziehungen zwischen den drei Komponenten ganz erheblich und in den einzelnen Teilen des Zwischenhirn-Neurohypophysen-Systems durchaus unterschiedlich.

4. Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin werden vom Zwischenhirn und nicht von der Neurohypophyse gebildet; der Organismus synthetisiert Oxytocin am schnellsten, Adiuretin am langsamsten.

5. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin unabhängig voneinander existieren und deshalb nicht lediglich drei Wirkungskomponenten eines einheitlichen Hormonmoleküls sein können. Vielmehr dürften Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin drei selbständige Hormone des Zwischenhirn-Neurohypophysen-Systems sein.

Literatur.

[1] Schaumann, O.: Heffters Handb. d. exper. Pharmakol., Erg.-Werk Bd. **3**, 61, Berlin 1937. — [2] Stehle, R. L.: Erg. Vitamin- u. Hormonforschg. **1**, 114 (1938). — [3] Du Vigneaud, V., G. W. Irving jr., H. M. Dyer, and R. R. Sealock: J. of Biol. Chem. **123**, 45 (1938). — [4] Irving jr., G. W., and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **123**, 485 (1938). — [5] Livermore, A. H., and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **180**, 365 (1949). — [6] Potts, A. M., and T. F. Gallagher: J. of Biol. Chem. **140**, ciii (1941); **140**, 561 (1941). — [7] Van Dyke, H. B., B. F. Chow, R. O. Greep and A. Rothen: J. of Pharmacol. **74**, 190 (1942). — [8] Pierce, J. G., and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **182**, 359 (1950). — [9] Pierce, J. G., and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **186**, 77 (1950). — [10] Turner, R. A., J. G. Pierce and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **191**, 21 (1951). — [11] Turner, R. A., J. G. Pierce and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **193**, 359 (1951). — [12] Mueller, J. M., J. G. Pierce, H. Davoll and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **191**, 309

(1951). — [13] Davoll, H., R. A. Turner, J. G. Pierce and V. Du Vigneaud: J. of Biol. Chem. **193**, 363 (1951). — [14] Kamm, O., I. W. Grote, and L. W. Rowe: J. of Biol. Chem. **92**, LXIX (1931). Patentschrift: Parke, Davis and Co., übertr. von: I. W. Grote (Detroit, Mich., USA) A. P. 2011443 vom 10. 4. 1931, ausg. 13. 8. 1935. Referat: Chem. Zbl. **1936/1**, 2145. — [15] Heller, H.: J. of Physiol. **98**, 405 (1940). — [16] Boyd, E. M., and R. Dingwall: J. of Pharmacol. **71**, 253 (1941). — [17] Heller, H.: Nature (London) **147**, 178 (1941). — [18] Stehle, R. L.: Vitamins and Horm. N. Y. **7**, 383 (1949). — [19] Hild, W., u. G. Zetler: Experientia **7**, 189 (1951).— Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 139 (1951). — [20] Hild, W., u. G. Zetler: Z. Nervenheilk. **167**, 205 (1952). — [21] Hild, W., u. G. Zetler: Klin. Wschr. **30**, 433 (1952). — [22] Bargmann, W.: Z. Zellforschg. **34**, 610 (1949). — Klin. Wschr. **27**, 617 (1949). — [23] Zetler, G.: Verh. dtsch. pharmak. Ges., 19. Tagung zu Göttingen 1952, Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 116 (1953). — [24] Hild, W., u. G. Zetler: Z. ges. exper. Med. **120**, 236 (1953). — [25] Hild, W., u. G. Zetler: Pflügers Arch. **257**, 169 (1953). — [26] McClosky, W. T., L. C. Miller and D. H. le Messurier: J. of Pharmacol. **57**, 132 (1936). — [27] Geiling, E. M. K., L. N. Tarr and A. D. L. Tarr: Bull. Hopkins Hosp. **57**, 123 (1935). — [28] Kuschinsky, G., u. P. Liebert: Klin. Wschr. **18**, 823 (1939). — [29] Simon, A., u. Z. Kardos: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 238 (1934). — [30] Kuschinsky, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **192**, 536 (1939). — [31] Liebert, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 87 (1941). — [32] Zetler, G.: Verh. dtsch. pharmak. Ges., 18. Tagung zu Mainz 1951, Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 193 (1952). — [33] Silvette, H.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **45**, 599 (1940). — [34] Schaumann, O., u. L. Schmidt: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 367 (1948). — [35] Heller, H., and R. P. Stephenson: Nature (London) **165**, 189 (1950). — [36] Sawyer, W. H.: Amer. J. Physiol. **169**, 583 (1952). — [37] Hoffmann, F.: Z. Geburtsh. **135**, 169 (1951). — [38] Heller, H., and E. J. Zaimis: J. Physiol. **109**, 162 (1949). — [39] Stehle, R. L.: Science **115**, 610 (1952). — [40] Block, J. R., and H. B. van Dyke: Arch. Biochem. **36**, 1 (1952). — [41] Pickford, M.: Pharmacol. Rev. **4**, 254 (1952). — [42] Haselbach, C. H., et A. R. Piquet: Helvet. chim. acta **35**, 2131 (1952). — [43] Du Vigneaud, V.: in „Symposium sur les hormones protéiques et dérivées des protéines", IIe Congrès internat. de biochimie, Paris 1952, Seite 20.

Nachtrag bei der 2. Korrektur: Soeben erschien eine Arbeit von M. Vogt (Brit. J. Pharmacol. **8**, 193, 1953) über Vasopressin, Adiuretin und Oxytocin in Hypothalamus-Extrakten, die sich besonders mit der quantitativen Divergenz zwischen Vasopressin und Adiuretin befaßt. Vogt schreibt, eine Fehlerquelle unserer Auswertungen läge darin, daß im Hypothalamus relativ hohe Mengen von Noradrenalin (1—2 γ/g Feuchtgewicht) vorkommen (Vogt: Klin. Wschr. **30**, 907, 1952), die die Vasopressintestung sicher beeinflußt hätten; letztere Publikation (kurzer Vortragsbericht) konnten wir weder bei unseren Versuchen noch in unseren Veröffentlichungen berücksichtigen, da sie erst Ende 1952 erschien. Dieser Noradrenalin-Gehalt kann aber unsere Ergebnisse nur wenig modifiziert haben, da wir z. B. bei der Auswertung der normalen Nuclei supraoptici pro kg Katze (decapitiert) pro Injektion im Mittel nur 0,0038 g Trockengewicht oder etwa 0,015 g Feuchtgewicht verabreichten; tatsächlich beeinflußten unsere Extrakte aus der nächsten Umgebung der Kerngebiete den Blutdruck nicht (Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 139, 1951; Abb. 4 u. 5). — Vogt untersuchte Totalextrakte aus Hypothalamus; der Noradrenalingehalt der isolierten hypothalamischen Kerngebiete ist noch unbekannt.

Dr. med. Gerhard Zetler, Pharmakologisches Institut der Universität, Kiel, Hospitalstraße 20.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 251—261 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Zur Methodik der Plasmavolumenbestimmung mit T—1824 („Evans Blau").

Von
Max Schwab.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 28. November 1952.)

Die Messung des Plasmavolumens (P. V.) ist für zahlreiche Fragen auf dem Gebiet des Kreislaufs, des Wasserhaushaltes und der Nierenfunktion von großer Bedeutung. Seine Bestimmung wird im allgemeinen durch Einbringen einer Testsubstanz in die Blutbahn und Ermittlung ihres Verteilungsvolumens nach vollendeter Durchmischung mit der vorhandenen Plasmamenge durchgeführt. Dabei ist zu fordern, daß die benutzte Testsubstanz sich nur im Plasma verteilt, nicht in die Blutzellen eintritt und möglichst langsam die Blutbahn verläßt. Zahlreiche Arbeiten angelsächsischer Autoren haben die Überlegenheit des Farbstoffes T — 1824 (Evans Blau) für zahlreiche praktische Belange der P. V.-Bestimmung erwiesen. Es sei in diesem Zusammenhang auf die grundlegenden Arbeiten von Gregersen und Gibson u. Evans verwiesen. *Zwei Umstände, nämlich die unterschiedlich lange Dauer der Mischungszeit und der auch nach der Durchmischung noch vorhandene stetige Konzentrationsabfall im Blut infolge der langsamen Eliminierung des Farbstoffes aus der Blutbahn verlangen in vielen Fällen,* besonders in pathologischen Fällen mit verlängerter Mischungszeit (Schock, Herzinsuffizienz), *die Aufnahme einer Konzentrations-Zeitkurve.* Die Extrapolation des langsam abfallenden Teils der Konzentrations-Zeitkurve auf die Zeit 0 ergibt dann die Anfangskonzentration und damit das Anfangs-P. V. Auf die große Bedeutung dieser Zusammenhänge für zahlreiche klinische Fragen wird an anderer Stelle näher eingegangen werden.

In eigenen Untersuchungen über die Beeinflussung des P. V. durch Digitaliskörper wurden zahlreiche Konzentrations-Zeitkurven mit und ohne Einwirkung von K-Strophanthin aufgenommen. Dabei wurde mehrfach die auch von anderen Autoren mitgeteilte Beobachtung (Gregersen, Harington u. Mitarb., Morris) gemacht, daß die direkte photometrische Bestimmung der Evans Blau-Konzentration in getrübten oder lipämischen Plasmen entweder gar nicht möglich ist

oder doch sehr unzuverlässige Werte ergibt. Es bestand daher das Bedürfnis nach einer auch in getrübten und lipämischen Plasmen anwendbaren Methode. Die von Harington u. Mitarb., Morris, Crooke u. Morris, Chinard u. Eder hierfür angegebenen Methoden bezwecken alle, den Farbstoff zunächst aus dem Plasma zu isolieren und dann erst der photometrischen Bestimmung zuzuführen. So extrahieren Harington u. Mitarb. Evans Blau mit Butylalkohol nach vorheriger Verdauung der Plasmaproteine mit Pepsin. Dieses Verfahren hat den Nachteil, daß es sehr zeitraubend ist und sich daher schlecht für Serienbestimmungen im Rahmen einer Konzentrations-Zeitkurve eignet. Außerdem ist die Methode nicht sehr genau und hämolyseempfindlich. Die von Morris angegebene chromatographische Methode ergibt nach den von Mather u. Mitarb. mitgeteilten P. V.-Bestimmungen bei 59 gesunden jungen Versuchspersonen einen Mittelwert von 54,8 ml/kg. Dieser Wert liegt bedeutend über den von Gregersen, Gibson und Evans u. a. mitgeteilten Werten, welche sich zwischen 42—45 ml/kg bewegen. Man darf daraus schließen, daß auch diese Methode keine zuverlässigen Messungen gestattet. Für die eigenen Belange schien die von Crooke u. Morris mitgeteilte Methode wegen ihres für Serienbestimmungen noch tragbaren Zeitaufwandes am ehesten geeignet. Das Prinzip der Methode besteht darin, mit einem aus Salzsäure und alkoholischer Phosphorwolframsäure bestehenden Fällungsreagens die Plasmaproteine, Pigmente und alkoholunlöslichen Lipoide auszufällen, während das Evans Blau in der überstehenden klaren Flüssigkeit verbleibt. Der Zweck vorliegender Arbeit ist, die mit der Methode nach Gibson u. Evans und derjenigen von Crooke u. Morris gewonnenen Ergebnisse miteinander zu vergleichen, den methodischen Fehler der beiden Methoden zu ermitteln und ihren Anwendungsbereich abzustecken.

Methodik.

Es wurden *Konzentrations-Zeitkurven* an 14 gesunden und 9 herzinsuffizienten Versuchspersonen (Vp.) aufgenommen. Im einzelnen gestaltete sich das Vorgehen folgendermaßen. Als gesunde Vp. dienten Klinikpatienten in der Rekonvaleszenz oder mit unwesentlichen krankhaften Befunden. Bei den herzinsuffizienten Vp. handelt es sich um dieselben, die in einer späteren Arbeit über die Strophantinwirkung auf das P.V. bei Herzinsuffizienz (Schwab) besprochen werden. Die Untersuchungen wurden im Januar bis März 1952 durchgeführt. Die Vp. erhielten gegen 7 Uhr eine Tasse Malzkaffee mit 2 trockenen Zwieback. Die Messungen selbst wurden in der Zeit von 9—12 Uhr durchgeführt. Vor Beginn lagen die Vp. mindestens ½ Std ruhig im Untersuchungsbett. Die Einhaltung der genannten Untersuchungsbedingungen ist wichtig, um Veränderungen des P.V. durch körperliche Tätigkeit (Kaltreider u. Meneely), Erhöhung des Grundumsatzes und Verdauungstätigkeit zu vermeiden.

Evans *Blau-Lösung.* Es wurden 20 ml einer 0,12%igen sterilen Evans Blau-Lösung zur Injektion bzw. Herstellung des Plasmastandards verwendet. Um das Injektionsvolumen tatsächlich konstant zu halten, wurde in Anlehnung an Remmer an dem Kolben einer 20 ml-Recordspritze ein Anschlag derart angebracht, daß bei bis zum Anschlag zurückgezogenem Kolben genau 20 ml aufgezogen sind. Die

Menge des so injizierten Evans Blau erwies sich als völlig ausreichend, um die Extinktionsmessung unter optimalen photometrischen Bedingungen durchführen zu können. Sollten in bestimmten Fällen sehr niedrige oder sehr hohe P.V.-Werte erwartet werden, so scheint es in Anlehnung an Gregersen zweckmäßig, das Injektionsvolumen unverändert zu belassen, dafür aber die Konzentration der Farbstofflösung zu erniedrigen oder zu erhöhen. In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden stets 20 ml Farbstoff injiziert.

Mit einer weiten Punktionskanüle wurde die Cubitalvene des einen Armes punktiert und bei liegender Kanülen 1—2 min gewartet, um den nicht immer vermeidbaren Stauungseffekt vor Entnahme der Blutprobe zur Gewinnung des Leerplasmas abklingen zu lassen. Die entnommene Blutprobe wurde durch Zusatz von einigen Körnchen Heparin ungerinnbar gemacht. Durch die liegende Kanüle wurden 20 ml 0,12%iger Evans Blaulösung injiziert. Nach der Injektion wurde die Kanüle aus der Vene entfernt, ohne daß vorher durch Aspiration von Blut oder Durchspritzen mit NaCl-Lösung der in der Kanüle verbliebene Farbstoff ausgewaschen wurde.

Dann wurde die Cubitalvene des anderen Armes punktiert und die mit Absperrhahn versehene Kanüle als Verweilkanüle belassen. Kanüle und Hahn wurden zur Vermeidung der Blutgerinnung mit Heparinlösung oder dem Antikoagulans Thrombocid gefüllt. 30 min nach der Injektion der Farbstofflösung wurde mit der Abnahme der Blutproben für die Aufstellung der Konzentrations-Zeitkurven begonnen. Es wurden dazu jeweils 10 ml Blut entnommen. Die Blutgerinnung wurde auch hier durch einige Körnchen Heparin verhindert.

Bei 9 Vp. wurden insgesamt 8 Entnahmen im Abstand von 15 min gemacht, bei den übrigen 5 normalen und 9 herzinsuffizienten Vp. nur 4. Die Wartezeit von 30 min zwischen Injektion und Beginn der Blutentnahmen mag sehr lang erscheinen. Ihre Wahl erfolgte aus folgenden Gründen. Die vorliegenden methodischen Untersuchungen sollten als Grundlage für die Beurteilung des Digitaliseinflusses auf das P.V. bei gesunden und herzinsuffizienten Vp. dienen. Bei der Herzinsuffizienz ist aber, wie später näher auseinandergesetzt werden soll, die Mischungszeit erheblich verlängert. Um in diesen Fällen, unabhängig von den Zirkulationsverhältnissen, die vorhandene gesamte Plasmamenge bestimmen zu können, muß man also die homogene Verteilung des injizierten Farbstoffes in der vorhandenen Plasmamenge abwarten. Nach den vorliegenden Untersuchungen (Gibson u. Evans, Gregersen) ist die gewählte Wartezeit von 30 min dafür sicher ausreichend, fanden doch Gibson u. Evans bei Herzinsuffizienz im allgemeinen Mischungszeiten bis zu 16 min. Aus Gründen der Einheitlichkeit der Untersuchungsbedingungen wurden auch die Blutentnahmen bei der herzgesunden Vp. mit und ohne Digitalisbehandlung nach 30 min begonnen. Die gewonnenen Blutproben wurden anschließend zweimal je 30 min bei 2000 Umdrehungen zentrifugiert. Bei Benutzung einwandfrei trockener Geräte und Spritzen wurde nur ausnahmsweise Hämolyse beobachtet. Die gewonnenen Plasmaproben wurden in folgender Weise weiterverarbeitet:

1. Direkte photometrische Bestimmung der Evans *Blau-Konzentration.*

2,0 ml Plasma wurden mit 8,0 ml 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt (Verdünnung 1:5) und dann photometriert. Als Photometer standen nur visuelle Geräte zur Verfügung. Es wurde das Photometer Leifo der Firma Leitz benutzt. Für die Wahl dieses Gerätes waren folgende Gesichtspunkte maßgebend. Als Polarisationsphotometer bietet das Leifo-Photometer gegenüber den Blendenphotometern (z. B. Pulfrich-Photometer) den großen Vorzug, daß der Stiles-Crawford-Effekt (Hansen, Kortüm) vermieden wird, welcher bei allen Blendenphotometern eine

je nach den Versuchsbedingungen unterschiedlich ins Gewicht fallende Fehlerquelle darstellt. Er beruht darauf, daß der Helligkeitseindruck eines gegenüber der Augenpupille schmalen Lichtbündels auf der Netzhaut mit dem Abstand des Lichtbündels vom Mittelpunkt der Augenpupille abnimmt. Da nun die Austrittspupillen eines Blendenphotometers (z. B. Pulfrich-Photometer) von der Öffnung der Meßblenden abhängig sind, werden sie für die beiden Strahlengänge des Photometers verschieden groß, wenn die Meßblenden unterschiedlich weit geöffnet sind. Dadurch wird ein Helligkeitsunterschied der beiden Gesichtshälften vorgetäuscht, der als Fehler in die Messung eingeht. Zusätzlich zu der Abnahme der Helligkeit tritt nach dem Pupillenrand hin noch ein Farbeffekt auf insofern, als auch bei monochromatischer Beleuchtung die Farbe der beiden Gesichtsfelder nicht gleich ist, wenn die Meßblenden verschieden weit geöffnet sind. Durch besondere Kunstgriffe („Hilfsschwächung") läßt sich zwar auch beim Pulfrich-Photometer der Stiles-Crawford-Effekt vermeiden; doch standen die hierfür nötigen Hilfsmittel nicht zur Verfügung. Die verwendete Farbstoffmenge und Konzentration sowie die Plasma- und NaCl-Volumina wurden so gewählt, daß in 6 cm Schichtdicke bei Extinktionen um $E = 1{,}0$ gemessen wurde. Wie nämlich zuerst von Mader betont wurde, lassen sich durch Messung im Bereich relativ hoher Extinktionen auch mit visuellen Geräten hohe Meßgenauigkeiten erzielen, welche nach Keck und den eigenen Erfahrungen denen lichtelektrischer Photometer nicht nachstehen. Voraussetzung ist allerdings, daß die Leuchtdichte nicht unter die optimale Empfindlichkeit des Auges absinkt und daß der Stiles-Crawford-Effekt vermieden wird. Beide Voraussetzungen waren bei Benutzung des Leifo-Photometers unter den geschilderten Bedingungen gewährleistet. Als Filter wurde das Leitz-Filter 620 verwendet, dessen Durchlässigkeitsmaximum bei dem Absorptionsmaximum von Evans-Blau (620 mμ) liegt. Spannungsschwankungen waren ohne Einfluß auf die Extinktionsmessung, wie mehrere Meßreihen mit Variation der Spannung zwischen 170 und 230 Volt zeigten. Als Maß der erzielten photometrischen Genauigkeit seien die relativen mittleren Fehler der Extinktion $\left(\frac{\Delta E \cdot 100}{E}\right)$ bei 6 Meßreihen mit jeweils 10 Einzelmessungen aufgeführt. Sie betrugen in allen Fällen weniger als 0,5. Da bei den Routinemessungen im allgemeinen nicht 10 Einzelmessungen sondern nur 4—5 gemacht wurden, wird der photometrische Fehler in dem nachstehend mitgeteilten Versuchsmaterial wohl durchweg etwas höher liegen. Aber auch in ungünstigen Fällen wird er 1% Meßungenauigkeit nicht überschritten haben.

2. Bestimmung nach Crooke-Morris.

Das Prinzip besteht, wie erwähnt, darin, daß mit einem aus Salzsäure und alkoholischer Phosphorwolframsäure bestehenden Fällungsreagenz die Plasmaproteine, Pigmente und alkoholunlöslichen Lipoide ausgefällt werden, während das Evans Blau in der überstehenden Flüssigkeit verbleibt. Im einzelnen wird folgendermaßen vorgegangen.

Reagenzien: 1. Konzentrierte HCl (D 1,18). 2. Alkoholische Phosphor-Wolframsäure. 15 g Phosphorwolframsäure werden in 100 ml 98%igen Alkohols gelöst, kräftig geschüttelt und zentrifugiert, um die geringe Menge von alkoholunlöslichem Material abzutrennen. Das so hergestellte Reagens ist für mindestens 14 Tage haltbar, wenn es in dunkler, gut verschlossener Flasche aufbewahrt wird.

Ausführung: Das Fällungsreagens wird durch Mischung von 1 Teil konz. HCl mit 6 Teilen alkoholischer Phosphorwolframsäure hergestellt; Filtration; die ablaufende Lösung muß völlig klar sein. Das Fällungsreagens ist lichtempfindlich und deshalb am besten unmittelbar vor Gebrauch herzustellen. 1 ml Plasma wird in 15 ml-Zentrifugengläser pipettiert; Zugabe von 7 ml Fällungsreagens unter

kräftigem, 5 min langem Schütteln; anschließend wird 3 min bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Die klare überstehende Flüssigkeit wird abgetrennt und gegen eine entsprechend behandelte Leerplasmaprobe photometriert. Die von Morris ab und an beobachteten Zwischenfälle (photochemische Oxydation von Evans Blau zu einem farblosen Körper bei Verwendung bestimmter Proben von Phosphorwolframsäure; Trübung der überstehenden Flüssigkeit bei manchen Plasmaproben) wurden nicht beobachtet. Es wurde allerdings stets bei künstlichem Licht gearbeitet, wie es von Morris empfohlen wurde.

Die Herstellung des *Plasmastandards* geschah im allgemeinen in Anlehnung an Gregersen. Es wurden zunächst 20 ml einer 0,12%igen Evans Blaulösung mit Aq. dest. auf 250 ml verdünnt. Von dieser so verdünnten Lösung wurden 0,2 ml mit 1,8 ml Leerplasma der Versuchsperson versetzt, welches vor Injektion der Farbstofflösung gewonnen worden war. Die Gesamtverdünnung betrug demnach 20 : 2500. 2 ml dieses Plasmastandards bzw. 1 ml bei der Methode Crooke-Morris wurden dann genau so behandelt wie die unbekannten Plasmaproben. In einem Teil der Versuche wurde der Plasmastandard für die direkte photometrische Bestimmung in Anlehnung an Remmer hergestellt. Zu 2 ml Plasma wurden 2 ml einer Evans Blau-Verdünnung von 20 : 2500 in Aq. dest. und dann 6 ml 0,9%ige NaCl-Lösung gegeben. Eine vergleichende Untersuchung der beiden Methoden zur Plasmastandardherstellung an 15 Vp. ergab, daß die Extinktion des Plasmastandards nach Remmer fast stets geringfügig höher lag als bei der Methode nach Gregersen. Die entsprechenden Mittelwerte der berechneten P.V. waren: 2755 ml mit Standard nach Gregersen, 2801 ml mit Standard nach Remmer. Der Quotient betrug 0,984 $\pm$ 0,0033. Bei der statistischen Auswertung mit Hilfe des Fisherschen T-Testes ergab sich ein $P < 0{,}0027$; damit ist der Unterschied statistisch hoch signifikant. In der vorliegenden und den folgenden Arbeiten wurde bei der direkten photometrischen Bestimmung das P.V. mit Hilfe des Gregersen-Standards berechnet.

Berechnung des Plasmavolumens. Durch die 4 bzw. 8 im Abstand von jeweils 15 min liegenden Meßpunkte der Konzentrations-Zeitkurve wurde eine Gerade gezogen. Die Extrapolation auf die Zeit 0 ergab dann im Schnittpunkt mit der Ordinate die Extinktion zur Zeit 0. Da das Lambert-Beersche Gesetz unter den angegebenen Versuchsbedingungen gültig war, konnte die Extinktion an die Stelle der Konzentration treten, so daß das P.V. nach folgendem Ansatz berechnet werden konnte: P.V. (ml) $= \frac{E_x}{E_{st}} \cdot 2500$; dabei bedeutet E_{st} die Extinktion des Plasmastandards und E_x die Extinktion, welche sich auf der Ordinate bei Extrapolation der Konzentrations-Zeitkurve auf die Zeit 0 ergibt.

Der *Vergleich der beiden Methoden* wurde nach folgenden Gesichtspunkten durchgeführt. Einmal wurden die mit den beiden Methoden gewonnenen P.V.-Werte einander gegenübergestellt und ihre Quotienten mit dem Fisherschen *T-Test* untersucht. Da diese statistische Testmethode auch im deutschen Schrifttum der letzten Jahre zunehmend Eingang fand, kann hier auf ihre nähere Charakterisierung verzichtet werden. Außerdem wurde die Streuung jeder der beiden Methoden in folgender Weise untersucht. Die bei 9 Vp. aufgestellten Konzentrations-Zeitkurven setzen sich aus jeweils 8 Meßpunkten im Abstand von 15 min zusammen. Normalerweise werden diese Meßpunkte, wenigstens in dem hier beobachteten Zeitraum, durch eine Gerade gut angenähert. Diese besitzt, je nach der bei den einzelnen Individuen unterschiedlich ausgeprägten Farbstoffelimination, einen verschiedenen Neigungswinkel gegenüber der Horizontalen. Da das P.V. unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen als konstant angesehen werden kann, müßten im Idealfall, d. h. bei Abwesenheit methodischer Fehler alle Meßpunkte von der Geraden

geschnitten werden. Das Vorhandensein methodischer Fehler würde sich also darin äußern, daß die betreffenden Meßpunkte unterhalb oder oberhalb der Geraden liegen. Dabei wären als „methodischer Fehler" alle jene Ungenauigkeiten zusammenzufassen, welche bei der Entnahme der Blutproben und ihrer weiteren Verarbeitung bis einschließlich der photometrischen Messung unterlaufen. Alle Meßpunkte wurden nicht in Extinktionen oder Konzentrationen angegeben; vielmehr wurde aus ihnen das spezifische P.V. (ml/kg) ausgerechnet. Soweit sie nicht von der Konzentrations-Zeitkurve geschnitten wurden, wurde das P.V. dabei in folgender Weise berechnet:

$$\text{P.V.}_{30} = \frac{\text{P.V.} \cdot E_k}{E_x}.$$

Hierbei bedeutet P.V._{30} das P.V. bei der ersten Blutentnahme, also 30 min nach Farbstoffinjektion, P.V. das mit Hilfe der Extrapolation auf die Zeit 0 berechnete P.V., E_k die Extinktion desjenigen Punktes auf der Konzentrations-Zeitkurve, welcher zeitlich der entnommenen Probe entspricht und E_x die Extinktion der entnommenen Probe.

Die so berechneten, einmal nach der Methode von Gibson u. Evans, zum anderen mit derjenigen von Crooke u. Morris erhaltenen spezifischen P.V., wurden mit Hilfe der *Varianzanalyse* (Streuungszerlegung) statistisch untersucht*. Diese gewinnt im angelsächsischen Schrifttum in zunehmendem Maße auch für die Bearbeitung biologischer Probleme an Bedeutung. In Deutschland legte jüngst Bretschneider ihre vorzügliche Eignung für die statistische Behandlung biologischer Probleme dar. Die Varianzanalyse besteht in der Bildung des Quotienten zweier unabhängiger Streuungsquadrate der experimentellen Daten und Bestimmung der Wahrscheinlichkeit dafür, daß ein Quotient zweier entsprechender Streuungsquadrate einer homogenen Gesamtheit so viel oder mehr von 1 abweicht als der gebildete Quotient. Der Tatsache, daß die Untersuchungsgröße nicht als Extinktion bzw. Konzentration angegeben ist, sondern mit Hilfe aller 8 Meßpunkte als spezifisches P.V. berechnet wurde, wurde durch Abzug von einem Freiheitsgrad je Versuchsperson Rechnung getragen.

Ergebnisse.

Die Tab. 1 zeigt eine Gegenüberstellung der nach Gibson u. Evans (in der Folge als Methode 1 bezeichnet) und Crooke u. Morris (Methode 2) bestimmten P. V. Der Mittelwert des spezifischen P. V. mit der Methode 1 ergibt 45,8 ml/kg und liegt damit dem von Gregersen mitgeteilten Standardwert von 45,0 ml/kg sehr nahe. Die Methode 2 ergibt demgegenüber einen im Mittel geringfügig tieferen Wert von 43,8 ml/kg. Dabei ist dieser Unterschied statistisch allerdings nicht signifikant ($P > 0{,}05$). Die Betrachtung der Einzelwerte zeigt, daß im Einzelfall jedoch nicht ganz unerhebliche Unterschiede auftreten können. Bei 9 herzinsuffizienten Versuchspersonen betrug das P. V. mit der Methode nach Gibson u. Evans im Mittel 3296,0 ml (45,0 ml/kg), nach der Methode von Crooke u. Morris 3165,0 ml (43,2 ml/kg). Der Quotient betrug hier $1{,}047 \pm 0{,}027$ bei einem $P > 0{,}05$. Es sei ausdrücklich bemerkt, daß die spezifischen P. V. bei den herzinsuffizienten Versuchspersonen mit Rücksicht auf die hier vorliegende Fragestellung ohne

* Für die eingehende Beratung bei der statistischen Auswertung bin ich Herrn Dr. Bretschneider, Göttingen, Physiologisches Institut, zu Dank verpflichtet.

Abzug der in den meisten Fällen vorhandenen Ödemen berechnet wurden. Auf die Problematik der Größe des P. V. bei Herzinsuffizienz soll im übrigen hier nicht eingegangen werden. Zusammenfassend kann man die Übereinstimmung der beiden Methoden als gut bezeichnen.

Tabelle 1. *Vergleich der Plasmavolumenbestimmung nach* Gibson *u.* Evans *und* Crooke-Morris *bei gesunden Versuchspersonen.*

Name, Geschlecht, Alter	Größe (m)	Gewicht (kg)	Oberfläche (m^2)	Plasmavolumen				ml/kg Gibson-Evans
				Gibson-Evans		Crooke-Morris		ml/kg Crooke-Morris
				ml	ml/kg	ml	ml/kg	
A. K., ♂, 18 J.	1,64	54	1,58	2655	49,1	2540	47,0	1,047
E. P., ♀, 42 J. .	1,70	77	1,89	3215	41,7	2750	35,8	1,165
R. H., ♂, 43 J..	1,79	63,5	1,81	2830	44,6	2640	41,6	1,072
M. B., ♀, 49 J.	1,60	72	1,76	2575	35,8	2585	36,0	0,995
I. A., ♀, 22 J. .	1,61	57,1	1,60	2610	45,5	2610	45,8	0,992
A. F., ♂, 47 J. .	1,71	64	1,75	2960	46,4	2850	44,5	1,042
G. W., ♀, 16 J.	1,64	57.6	1,62	2680	46,5	2530	44,0	1,057
I. K., ♀, 38 J. .	1,56	52	1,50	2520	48,5	2580	49,6	0,977
G. Q., ♂, 60 J..	1,62	66	1,71	2595	39,3	2750	41,6	0,945
W. M., ♂, 40 J.	1,70	75	1,87	3070	41,0	2860	38,2	1,073
E. Sch., ♂, 74 J.	1,68	65,8	1,75	3450	52,4	3010	45,7	1,146
L. M., ♀, 27 J. .	1,56	50,8	1,48	2600	51,2	2310	45,5	1,125
B. H., ♂, 50 J.	1,70	66	1,76	3310	50,2	3595	54,5	0,922
A. R., ♀, 62 J. .	1,55	47	1,43	2335	49,6	2075	44,1	1,125
Mittelwerte . .				2814,7	45,8	2691	43,8	1,049
Mittlere Fehler								± 0,024
								$P >$ 0,05

Es soll nunmehr der *Vergleich der Streuungen* beider Methoden besprochen werden. Tab. 2 zeigt die Werte des spezifischen P.V., welche nach dem oben geschilderten Verfahren aus den 9 Konzentrations-Zeitkurven gewonnen wurden. Sie sind nach Vp. und Zeitpunkt der Messung gruppiert. Einerseits soll diese Tabelle als 2-Wege-Schema das Verständnis des nachfolgenden Varianzschemas erleichtern

Tabelle 2. *Spezifisches Plasmavolumen (ml/kg) in Abhängigkeit von Versuchsperson und Zeitpunkt der Messung; Methode:* Gibson *u.* Evans.

Versuchsperson	1. Entnahme	nach 15′	nach 30′	nach 45′	nach 60′	nach 75′	nach 90′	nach 105′	S
R. H., 43 J., ♂	44,6	44,6	44,6	43,8	44,6	43,8	44,6	44,6	355,2
A. F., 47 J., ♂	46,4	45,9	45,9	45,9	46,4	47,1	47,5	46,7	371,8
E. Sch., 74 J., ♂	46,0	52,5	52,5	53,0	51,0	52,5	52,5	52,5	412,5
B. H., 50 J., ♂	50,2	50,2	50,2	50,2	50,2	47,5	50,2	47,2	395,9
E. P., 42 J., ♀	41,7	41,7	41,7	37,6	41,7	41,7	41,7	40,1	327,9
M. B., 49 J., ♀	35,0	35,8	36,5	36,2	35,8	35,8	35,8	35,3	286,2
J. A., 22 J., ♀	45,5	45,5	45,5	45,5	45,5	45,5	45,5	45,3	364,0
G. W., 16 J., ♀	46,1	46,5	44,4	46,5	48,2	46,5	46,5	45,4	370,1
J. K., 38 J., ♀	48,5	48,5	48,5	48,5	48,5	48,5	48,5	48,5	388,0
S	404,0	411,2	409,8	407,2	411,9	408,9	412,8	405,8	3271,6

andererseits dient sie zur Übersicht über die experimentell erhobenen Befunde überhaupt. In welcher Weise nun die Vp. und der Zeitpunkt der Messung als Ursache der Streuung in Frage kommen, lehrt eine Betrachtung des zu diesem 2-Wege-Schema gehörenden Varianzschemas (Tab. 2a). In der ersten Spalte sind die Einzelbestandteile der Gesamtstreuung aufgeführt, in der zweiten die Summe der Abweichungsquadrate vom Mittelwert, in der dritten die Zahl der Freiheitsgrade und in der vierten das Streuungsquadrat. Unter „Rest" verbleibt derjenige Teil der Gesamtstreuung, welcher nach Abtrennung der durch die betrachteten Gruppierungsgesichtspunkte verursachten Teilstreuungen noch übrigbleibt. Die nächste Spalte gibt durch den Quotienten $F = \frac{S^2_x}{S^2_R}$ an, wie groß die durch den betreffenden Gruppierungsgesichtspunkt hervorgerufene Streuung im Verhältnis zur Reststreuung ist. Die anschließend aufgeführten F-Werte müssen von dem Quotienten $\frac{S^2_x}{S^2_R}$ überschritten werden, wenn der durch den Index an F bezeichnete Grad der statistischen Sicherung erreicht werden soll.

Tabelle 2a. *Varianzschema* zu Tabelle 2.

Bestandteil der Streuung	Summe der Abweichungsquadrate	f	S^2	$\frac{S^2_x}{S^2_R}$	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$F_{0,001}$
Vp.	1434,257	8	179,28	118,5***	2,14	2,91	4,05
Zeit	7,465	7	1,06	0,7			
Rest. . . .	71,150	47	1,515				
Gesamt . .	1512,872	62	24,42		$S = \pm 1{,}23$ ml/kg		

f = Freiheitsgrad.
S^2 = Streuungsquadrat.
$\frac{S^2_x}{S^2_R}$ = $\frac{\text{Untersuchtes Streuungsquadrat.}}{\text{Reststreuungsquadrat.}}$
$F_{0,05}$ = Signifikanzmaß für 5% = Grenze.
$F_{0,01}$ = Signifikanzmaß für 1% = Grenze.
$F_{0,001}$ = Signifikanzmaß für 0,1% = Grenze.
* = signifikant für 5% = Grenze.
** = signifikant für 1% = Grenze.
*** = signifikant für 0,1% = Grenze.

Den Hauptanteil an der Gesamtstreuung des spezifischen P. V. hat die auf die verschiedenen Versuchspersonen entfallende Teilstreuung. Dieser Einfluß ist hochsignifikant. Es kommt darin die allgemein bekannte Tatsache zum Ausdruck, daß das spezifische P. V. von Versuchsperson zu Versuchsperson erheblich schwankt. So gibt Gregersen Werte von 37,6—58,5 ml/kg für gesunde Studenten an. Insofern dürfte also der untersuchte Personenkreis repräsentativ für die im allgemeinen vorkommenden Verhältnisse sein. Demgegenüber spielt der Zeitpunkt der Messung keine Rolle. Dies bedeutet, daß keine Veränderung des P. V. während der Untersuchungsperiode stattgefunden hat und auch kein von dem Zeitpunkt der Messung abhängiger Fehler in der Methodik

vorliegt. Die für die Aufstellung der Konzentrations-Zeitkurven benötigten 100 ml Blut lassen sich, wie vorauszusehen war, meßtechnisch nicht erfassen. Das Reststreuungsquadrat beträgt mit 1,515 nurmehr den 16. Teil des Gesamtstreuungsquadrates (24,42). Daraus geht hervor, daß die vorgenommene Gruppierung die wesentlichen Komponenten der Gesamtstreuung erfaßt. Aus dem Reststreuungsquadrat ergibt sich eine Reststreuung $s = \pm 1{,}23$ ml/kg. Darin sind vor allem die methodischen Fehler, aber auch möglicherweise noch vorhandene Wechselwirkungen ersten Grades enthalten; diese können nämlich in einem eingliedrigen Zwei-Wege-Schema, wie es die Tab. 2 darstellt, nicht gesondert erfaßt werden. Die Betrachtung der Konzentrations-Zeitkurven ergibt jedoch keinen Anhalt für eine etwa vorhandene Wechselwirkung zwischen Versuchsperson und Zeit. Es ist daher berechtigt, die *Reststreuung im vorliegenden Fall im wesentlichen auf den methodischen Fehler zu beziehen.* Sie gestattet, in Verbindung mit dem für 47 Freiheitsgrade und z. B. die 1%-Grenze zuständigen t-Wert von 2,69*, nähere Angaben darüber zu machen, mit welcher Genauigkeit eine P. V.-Bestimmung bzw. ein Mittelwert aus mehreren Bestimmungen gemessen werden kann. So würde im vorliegenden Fall eine Einzelmessung des P. V., die z. B. 43,0 ml/kg ergibt, mit einem mittleren Fehler von $\pm 2{,}69 \times 1{,}23 = 3{,}31$ ml/kg bei Zugrundelegung der 1%-Grenze ermittelt werden können. Wäre der genannte Wert von 43,0 ml/kg der Mittelwert aus 4 Messungen, dann ergäbe sich ein mittlerer Fehler von $\pm 2{,}69 \times \frac{1{,}23}{\sqrt{4}} = 1{,}87$ ml/kg für die 1%-Grenze.

Es sollen nun dieselben Überlegungen für die Methode 2 angestellt werden. Das zugehörige Varianzschema (Tab. 3) ergibt in Übereinstimmung mit dem entsprechenden Schema der Methode 1 auch hier den erwarteten hochsignifikanten Einfluß der Versuchspersonen. Auch

Tabelle 3. *Varianzschema. Spezifisches Plasmavolumen (ml/kg) in Abhängigkeit von Versuchsperson und Zeitpunkt der Messung; Methode:* Crooke *u.* Morris.

Bestandteil der Streuung	Summe der Abweichungsquadrate	f	S^2	$\frac{S_x^2}{S_R^2}$	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$F_{0,001}$
Vp.	2341,79	8	292,72	42,2***	2,14	2,91	4,05
Zeit	44,01	7	6,29	0,91			
Rest. . . .	326,26	47	6,94				
Gesamt . .	2712,06	62	43,7	$S = \pm 2{,}63$ ml/kg			

hier ist der Zeitpunkt der Messung ohne Bedeutung. Das Reststreuungsquadrat beträgt diesmal nur den etwa 6,3. Teil des Gesamtstreuungsquadrates. Die Streuung ist daher mit $s = \pm 2{,}63$ ml/kg über 2mal so

* Entnommen aus der t-Tafel bei Snedecor, Statistical Methods, 4. Aufl., S. 65.

groß wie bei Methode 1. Da die Reststreuung auch hier im wesentlichen auf den methodischen Fehler zurückzuführen ist, bedeutet dies, daß bei Methode 2 die Meßungenauigkeit mehr als 2mal so groß ist als bei Methode 1. Eine Einzelmessung des spezifischen P. V., welche z. B. 43,0 ml/kg ergeben möge, wäre bei Methode 2 mit einem mittleren Fehler von $\pm 2{,}69 \times 2{,}63 = \pm 7{,}35$ ml/kg belastet; wäre 43,0 ml/kg der Mittelwert aus 4 Messungen des P. V., dann ergäbe sich der mittlere Fehler zu $\pm 2{,}69 \times 2{,}63 = \pm 3{,}67$ ml/kg.

Aus dem Vergleich von Methode 1 und 2 ergibt sich, daß die *Meßgenauigkeit der Methode 1 mehr als 2mal so groß ist wie die der Methode 2. Man wird daher in allen Fällen, da die zu untersuchenden Plasmen die direkte photometrische Bestimmung der* Evans *Blau-Extinktion zulassen,*

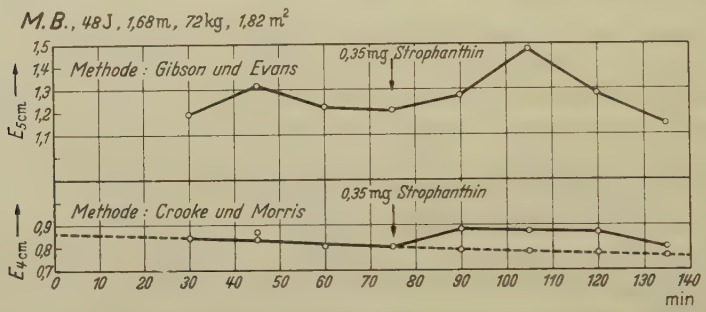


Abb. 1. Veränderung der Konzentrations-Zeitkurven nach 0,35 mg K-Strophanthin.

diese Methode, am besten in der Ausführung von Gibson u. Evans, *anwenden. Lediglich in den Fällen, da die direkte photometrische Bestimmung infolge getrübter oder lipämischer Plasmen nicht möglich ist, wird man sich mit Vorteil der Methode von* Crooke u. Morris *bedienen.* Die Abb. 1 soll diese Verhältnisse an dem Beispiel einer Konzentrations-Zeitkurve unter dem Einfluß von Strophanthin noch einmal verdeutlichen.

Während hier die direkte photometrische Bestimmung infolge Plasmatrübung weder die Extrapolation der ersten 4 Meßpunkte auf die Zeit 0 erlaubt noch die Veränderungen der Konzentrations-Zeitkurve unter Strophanthin zu erkennen gestattet, erhält man mit der Methode nach Crook u. Morris den für die beiden Abschnitte vor und nach Strophanthingabe bekannten Verlauf.

Zusammenfassung.

Es wurde ein Vergleich der Bestimmung des P. V. nach der Methode von Gibson u. Evans und derjenigen von Crooke u. Morris durchgeführt. Dabei fanden sich folgende Ergebnisse:

1. Der methodische Fehler der direkten photometrischen Bestimmung mit Hilfe der Methode nach Gibson u. Evans ist in nicht getrübten

und nicht lipämischen Plasmen etwa halb so groß wie derjenige der Methode nach Crooke u. Morris.

2. In getrübten und lipämischen Plasmen ist die direkte photometrische Bestimmung der Evans Blau-Konzentration nicht möglich. Hier wird mit Vorteil die Methode nach Crooke u. Morris benutzt.

3. Es werden die optimalen photometrischen Meßbedingungen bei Verwendung visueller Geräte in Bezug auf die Extinktionsmessung von Evans Blau sowie Fragen der Plasmastandard-Herstellung besprochen.

Literatur.

Bretschneider, H. J.: Dissertation Göttingen 1952. — Chinard, F. P., anp H. A. Eder: J. of Exper. Med. **87**, 473 (1948). — Crooke, A. C., and C. I. O. R. Morris: J. of Physiol. **101**, 217 (1942). — Gibson, I. G., and W. A. Evans: J. Clin. Invest. **16**, 301, 317 (1937). — Gregersen, M. I.: Mac Leod's Physiology in Modern Medicine, St. Louis 1941, S. 1067. — J. Labor. a. Clin. Med. **29**, 1266 (1944). — Hansen, G.: „Zeiss-Nachrichten" 5. Folge, Heft 5, S. 117 (1944). — Harington, C. R., E. E. Pochin and I. R. Squire: Clin. Sci. **4**, 311 (1940). — Kaltreider, N. L., and G. R. Meneely: J. Clin. Invest. **19**, 627 (1940). — Keck, H.: Optik **1**, 449 (1946). — Kortüm, G.: Kolorimetrie und Spektrophotometrie, Berlin 1948. — Mader, B.: Die chemische Technik **16**, 165 (1943). — Mather, K., R. G. Bowler, A. C. Crooke and C. I. O. R. Morris: Brit. J. Exper. Path. **28**, 12 (1947). — Morris, C. I. O. R.: Biochemic. J. **38**, 203 (1944). — Remmer, H.: Klin. Wschr. **1950**, 566. — Schwab, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 271 (1953).

Dr. Max Schwab, Göttingen, Med. Univ.-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 262—270 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Der Einfluß von Strophanthin auf das Plasmavolumen beim herzgesunden Menschen.

Von
Max Schwab.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 28. November 1952.)

Der Wirkungsmechanismus der Digitalisglykoside ist in den letzten Jahren mit verbesserten Methoden, besonders in den angelsächsischen Ländern, vielfach untersucht worden. Neben den primär kardialen Angriffspunkten wurde dabei auch mehrfach auf die extrakardialen Wirkungen hingewiesen. Eine besondere Bedeutung in dieser Hinsicht kommt der Beeinflussung des Blut- bzw. Plasmavolumens (P. V.) durch Digitalis zu.

Am Menschen liegen darüber bisher folgende Untersuchungen vor. 1928, 1929 und 1931 teilte Wollheim mit, daß 20—50 min nach i.v. Injektion von 2 ml Digipurat in 36 untersuchten Fällen eine Verminderung der zirkulierenden Blutmenge um 300—1600 ml eintrat. „Dieser Effekt trat bei 9 Kreislaufnormalen ebenso wie bei 9 Kompensierten und 20 mehr oder weniger dekompensierten Kreislaufpat. ein. Dieser Digitaliseffekt fehlte in 8 Versuchen; 3 von ihnen waren schwere digitalisrefraktäre Dekompensationen." Die Blutvolumenuntersuchungen wurden dabei mit der Trypanrotmethode und Bestimmung des venösen Hämatokrit-Wertes durchgeführt. 1950 teilte Wollheim Untersuchungen seiner Mitarbeiter I. und R. Zissler mit, die auch nach der i.v. Injektion von 0,25 mg Digitoxin und 0,25 mg K-Strophanthin eine Verminderung der sogenannten aktiven Blutmenge fanden. Dabei betrug die Abnahme der aktiven Blutmenge nach K-Strophanthin bei 12 gesunden Vp. im Mittel 900 ml. Die zuletzt genannten Untersuchungen wurden mit der Evans Blau-Methode gemacht, wobei 3 bzw. 6 min nach Farbstoffapplikation die Blutproben zur Bestimmung der Evans Blau-Konzentration entnommen wurden (Degkwitz, I. Zissler u. R. Zissler). Ähnliche Beobachtungen wie Wollheim teilte Mies am normalen und herzinsuffizienten Menschen mit. Dabei war das Ausmaß der Blutmengenabnahme abhängig von der Höhe der Strophanthindosis. Auch *im Tierversuch* sah Mies eine Verminderung der Blutmenge am Kaninchen nach Strophanthinapplikation. 1947 teilten Handley u. Telford Untersuchungen des P.V. und der extracellulären Flüssigkeit (Thiocyanatraum) an Hunden im Anschluß an Digitalisgaben mit. Sie verwendeten 0,3—0,6 ml/kg einer Digitalistinktur, welche 1 USP XII Digitaliseinheit/ml enthielt. Dabei fand sich eine Abnahme des P.V., ein Anstieg des Hämatokrit-Wertes und eine Zunahme des Thiocyanatraums. Da die Zunahme des Thiocyanatraumes weit größer als die Abnahme des P.V. war, schlossen die Autoren auf eine Abwanderung von Flüssigkeit aus den Zellen in den interstitiellen Raum. Am deutlichsten schien dieser Effekt innerhalb von 4—8 Std nach Digitalisapplikation ausgeprägt zu sein. In

einigen Fällen schien der Effekt über 3—4 Tage fortzubestehen. 1949 berichteten Chapman u. Handley über ergänzende Untersuchungen mit i.v. Digitoxin- bzw. Digoxin (0,1—0,2 mg/kg)-Applikation. Mit T-1824 wurden in 4—10stündigen Intervallen das P.V., mit Thiocyanat die extracelluläre Flüssigkeit bestimmt. Außerdem wurden die Elektrolyte Natrium und Kalium untersucht und Elektrokardiogramme geschrieben. Es ergab sich, daß Digitalis in niedrigen Dosen kaum Veränderungen der erwähnten Meßgrößen hervorrief. Dagegen fanden sich bei hohen Dosen die von der Digitalis-Überdosierung her bekannten EKG-Veränderungen, ein Anstieg des Hämatokrit-Wertes, eine Verminderung des P.V. und eine Vergrößerung des Thiocyanatraums.

Während nun Wollheim u. Mies die von ihnen gefundene Verkleinerung der aktiven Blutmenge mit einer Füllung der Depotorgane erklärten, deuteten Handley u. Mitarb. ihre Befunde dahin, daß die Zunahme der interstitiellen Flüssigkeit sowohl durch Wasseraustritt aus den Zellen wie durch Wasseraustritt aus der Blutbahn zustande käme.

Wenn man zu den vorstehend mitgeteilten Befunden Stellung nehmen will, so ist zunächst eine nähere Besprechung der *angewandten Methodik* erforderlich. Sie soll sich im Rahmen dieser Arbeit nur auf das P. V. und seine Bestimmung beschränken. Wie in einer vorausgegangenen Arbeit schon kurz berichtet wurde, zeigt ein in die Blutbahn injizierter Farbstoff bei Verfolgung seiner Konzentration durch mehrfache Blutentnahmen 2 Abschnitte seines Konzentrationsabfalles. Der erste, verhältnismäßig steile Abfall der Konzentrations-Zeitkurve wird auf die Durchmischung des Farbstoffes mit dem vorhandenen Plasma zurückgeführt, während der zweite, weniger steil abfallende Abschnitt auf die Eliminierung des Farbstoffes aus der Blutbahn bezogen wird. Im Falle des Evans Blau wird dieser Schwund aus der Blutbahn im wesentlichen auf die farbstoffaufnehmende Tätigkeit der Zellen des RES und den Austritt von Albumin—Evans Blau ist zum großen Teil an das Plasma-Albumin gebunden — bezogen. Der erste Abschnitt der Konzentrations-Zeitkurve, die sogenannte Mischungszeit, kann bei gesunden Versuchspersonen mit normalem P. V. und intaktem Zirkulationsapparat 10 min nach Einbringen des Farbstoffes in die Blutbahn im allgemeinen als abgeschlossen angesehen werden (Gregersen). Häufig wird die Durchmischung auch schon früher, etwa nach 4—6 min, nahezu vollständig sein. Unter normalen Verhältnissen mag daher entsprechend dem Vorschlag von Gregersen die Bestimmung des P. V. durch Entnahme einer einzigen Blutprobe 10 min nach Farbstoffinjektion ausreichend sein. Der unbedeutende bis dahin eingetretene Farbstoffschwund aus der Blutbahn kann dabei vernachlässigt werden. Ganz andere Verhältnisse liegen dagegen vor, wenn die *Mischungszeit verlängert* ist. Dies wird *bei Vermehrung der Plasmamenge*, bei *Verminderung des Herzminutenvolumens sowie bei Kombination beider Zustände* der Fall sein. In diesen Fällen wird dann die Durchmischung des Farbstoffes mit der Plasmamenge nach 10 min noch nicht abgeschlossen sein. *Eine exakte*

Bestimmung des P. V. ist in solchen Fällen natürlich nur durch Aufnahme einer Konzentrations-Zeitkurve möglich. Dagegen wird eine Bestimmung des P. V. mit Hilfe von Blutentnahmen nach 3 bzw. 6 min ein Verteilungsvolumen des Farbstoffes ergeben, welches kleiner ist als die gesamte vorhandene Plasmamenge. Daraus ergibt sich, daß die von Wollheim u. Mitarb. benutzte Methode zur Bestimmung der sogenannten aktiven Blutmenge — Blutentnahmen nach 3 bzw. 6 min nach Farbstoffinjektion — ein Verteilungsvolumen des benutzten Farbstoffes ergibt, welches bei normalen Versuchspersonen dem Gesamt-P. V. mehr oder weniger nahekommen mag, bei veränderten Kreislaufverhältnissen (medikamentös verursachte Veränderungen des Herzminutenvolumens, Herzinsuffizienz, Schock) dagegen weitgehend von der Größe des Herzminutenvolumens und ferner von der Größe der vorhandenen Plasmamenge abhängt. Wollheim und Degkwitz, I. u. R. Zissler haben im übrigen selbst darauf hingewiesen, daß mit ihrer Methode der Bestimmung der „aktiven" Blutmenge ein anderes Volumen erfaßt wird als mit der Methode nach Gibson u. Evans. Dadurch erklären sich manche Diskrepanzen in den von Wollheim u. Mitarb. und von anderen Autoren mitgeteilten Befunden.

Der Berechnung des Anfangs-P.V. mit Hilfe der Extrapolation der Konzentrations-Zeitkurve auf die Zeit 0 liegt die Annahme zugrunde, daß sich während der Mischungszeit das Evans Blau in nicht stärkerem Maße als später, zur Zeit des langsam abfallenden Teils der Konzentrations-Zeitkurve, aus der Blutbahn entfernt. Gegen die Zulässigkeit dieser Annahme sind in letzter Zeit, teils auf Grund von Tierversuchen (Cruickshank u. Whitfield), teils auf Grund von Untersuchungen am Menschen (Mather u. Mitarb., Remmer), Bedenken derart vorgebracht worden, daß in dieser Zeit Farbstoff in größerem Ausmaß als später die Blutbahn verlasse. Wenn auch diese Frage noch nicht eindeutig entschieden ist, so kann man auf Grund der bisherigen Befunde doch sagen, daß dieses Vorkommnis sicher selten ist. Aber selbst dann, wenn dadurch die Absolutbestimmung des P.V. zu groß ausfallen sollte, so würde das Evans Blau immer noch für die Aufstellung von Konzentrations-Zeitkurven und Beobachtung ihrer Veränderungen, etwa durch Pharmaka, voll brauchbar sein.

Leider machen Mies, Handley und Telford sowie Chapman u. Handley bezüglich der Einzelheiten der von ihnen verwendeten P. V.-Bestimmung keine näheren Angaben. Aus den vorstehend diskutierten Gründen beeinträchtigt dies die Interpretation ihrer Befunde.

Da durch die Untersuchungen von Wollheim u. Mitarb. die Beeinflussung der sogenannten aktiven Blutmenge festgestellt wurde, interessierte nunmehr, ob Digitalis auch das Gesamt-P. V. unabhängig von den bekannten hämodynamischen Wirkungen beeinflußt.

Methodik.

Im allgemeinen wurde methodisch so vorgegangen, wie es in einer vorangegangenen Arbeit (Schwab) ausführlich beschrieben wurde. Im einzelnen sind noch folgende Punkte erwähnenswert. Als Kontrollgruppe dienten 14 gesunde Vp.,

bei denen Konzentrations-Zeitkurven mit jeweils 8 Blutentnahmen im Abstand von 15 min aufgestellt wurden. Die 1. Entnahme erfolgte 30 min nach Evans Blau-Injektion. Für die Wahl dieser relativ langen Wartezeit waren Überlegungen maßgebend, die früher dargelegt wurden. Diesen Kontrollen stand eine zweite Gruppe von 14 Vp. gegenüber, bei denen nach der 4. Blutentnahme 0,35 mg K-Strophanthin injiziert wurde. Nach der K-Strophanthingabe wurden abermals 4 Blutproben im Abstand von 15 min entnommen. Bezüglich der weiteren Verarbeitung der Blutproben sei auf die vorangegangene Arbeit verwiesen. Bei dem größeren Teil der Untersuchungen wurde sowohl die direkte photometrische Bestimmung des Evans Blau wie auch seine Extraktion nach Fällung der Eiweißkörper entsprechend der Methode nach Crooke u. Morris angewandt. Den nachfolgenden Auswertungen liegt allerdings nur die Methode nach Gibson u. Evans zugrunde. Liefert diese doch in nicht getrübten und nicht lipämischen Seren sehr viel genauere Resultate als die Methode nach Crooke u. Morris. Die Bestimmung der Plasmaproteinkonzentration wurde mit der Kupfersulfatmethode nach Philipps u. van Slyke vorgenommen (Reiser). Die *statistische Auswertung* erfolgte wieder mit Hilfe der Varianzanalyse.

Um einen direkten Einfluß von Strophanthin auf die Extinktion von Evans Blau auszuschließen, wurden in vitro-Versuche angestellt. Dazu wurden die Evans Blau enthaltenden Plasmaproben einmal in üblicher Weise mit 8 ml 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt, zum anderen mit 8 ml NaCl-Lösung, welche Strophanthin in der Verdünnung 0,25 mg : 2500 enthielt.

Ergebnisse.

Die Untersuchungen an einer Kontrollgruppe von 14 Versuchspersonen ergaben, daß bei Aufnahme von Konzentrations-Zeitkurven mit 8 Blutentnahmen die einzelnen Extinktionswerte sehr gut durch eine Gerade verbunden werden können. Auf die ausführliche Wiedergabe der aus den Konzentrations-Zeitkurven erhaltenen P. V.-Werte bei dieser Kontrollgruppe muß hier verzichtet werden. Dagegen sei das zugehörige Varianzschema wiedergegeben (Tab. 1). Es liegt ihm eine Gruppierung nach Versuchspersonen, und 1. und 2. Hälfte der Konzentrations-Zeitkurve sowie dem Zeitpunkt der Messung zugrunde. Die Gruppierung „1. Hälfte, 2. Hälfte" entspricht der späteren Gruppierung „vor Strophanthin, nach Strophanthin". Der Mittelwert der ersten Hälfte betrug 46,6 ml/kg, derjenige der 2. Hälfte 46,5 ml/kg. Beide Mittelwerte stimmen damit gut mit dem von Gregersen angegebenen Wert von 45,0 ml/kg überein.

Das zugehörige Varianzschema (Tab. 1) läßt erkennen, daß die auf die Versuchspersonen entfallende Teilstreuung den überwiegenden Teil der Gesamtstreuung ausmacht. Der Einfluß der Versuchspersonen ist daher hochsignifikant. Wie früher schon dargelegt, kommt hierin die Tatsache der großen Schwankungsbreite der spezifischen P. V.-Werte bei den einzelnen Individuen zum Ausdruck. Dagegen ist der Zeitpunkt der Messung ohne Einfluß. Ebenso ist die Wechselwirkung zwischen Versuchsperson und Zeit nicht signifikant. Das Reststreuungsquadrat beträgt etwa den 13. Teil des Gesamtstreuungsquadrates. Hieraus geht

hervor, daß die vorgenommene Gruppierung die wesentlichen Streuungsursachen erfaßt hat. In der Reststreuung $s = \pm 1{,}3$ ml/kg kommt der methodische Fehler, wie er früher ausführlich diskutiert wurde, zum Ausdruck.

Tabelle 1. *Varianzschema. Spezifisches Plasmavolumen (ml/kg) in Abhängigkeit von Versuchsperson, 1. u. 2. Hälfte der Konzentrations-Zeitkurve und Zeitpunkt der Messung.*

Bestandteile der Streuung	Summe der Abweichungsquadrate	f	S^2	$\frac{S_x^2}{S_R^2}$	$F_{0{\cdot}05}$	$F_{0{\cdot}01}$	$F_{0{\cdot}001}$
Vp.	2042,82	13	157,4	92,6***	2,14	2,94	4,27
1. (1.—4. Entnahme) u. 2. (5.—8. Entnahme) Hälfte der Konzentrations-Zeitkurve . . .	0,14	1	0,14	0,082	4,24	7,77	13,88
Zeitpunkt . . .	0,38	3	0,127	0,075	2,99	4,68	7,45
Wechselwirkungen							
Vp.-1./2. Hälfte	36,24	13	2,79	1,641	2,14	2,94	4,27
Vp.-Zeit . . .	64,94	39	1,667	0,98	1,87	2,45	3,37
1./2. Hälfte-Zeit	7,08	3	2,36	1,39	2,99	4,68	7,45
Rest	42,56	25	1,7				
Gesamt	2194,16	97	22,61	$S = \pm 1{,}3$ ml/kg			

Die Abb. 1 zeigt nun den Verlauf einer Konzentrations-Zeitkurve nach Applikation von 0,35 mg K-Strophanthin im Anschluß an die 4. Blutentnahme. Das P. V. nimmt im vorliegenden Fall 15 min nach Strophanthineinwirkung von 2940 ml auf 2845 ml ab, nach 30 min beträgt es 2870 ml, nach 45 min 2840 ml und nach 60 min 2800 ml.

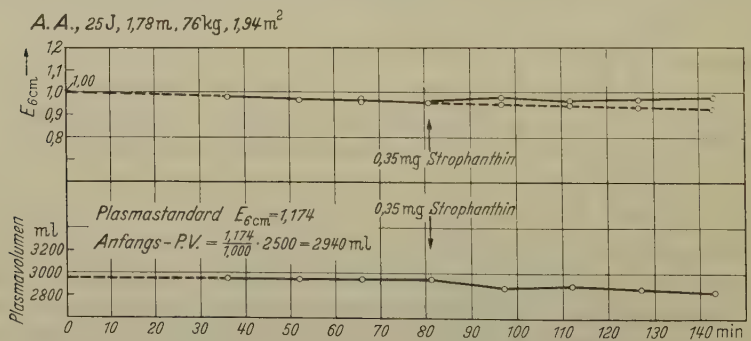


Abb. 1. Veränderung d. Konzentrations-Zeitkurve u. d. Plasmavolumens n. 0,35 mg K-Strophanthin.

Die Tab. 2 zeigt die aus den 14 Konzentrations-Zeitkurven der Strophanthingruppe errechneten spezifischen P. V.-Werte in Abhängigkeit von Versuchsperson, Strophanthin und Zeitpunkt der Messung. Die

Tabelle 2. *Spezifisches Plasmavolumen (ml/kg) in Abhängigkeit von Versuchsperson, Zeitpunkt der Messung und Strophanthininjektion.*

Versuchsperson		Vor Strophanthin	Nach Strophanthin
H. H.	1. Messung	48,4	47,9
48 J.	2. „	48,4	47,0
♂	3. „	48,4	44,2
	4. „	48,4	41,7
	S	193,6	180,8
I. K.	1. Messung	39,6	37,0
39 J.	2. „	39,6	36,8
♂	3. „	39,6	37,6
	4. „	39,6	36,8
	S	158,4	148,2
A. A.	1. Messung	41,5	39,5
25 J.	2. „	41,5	40,0
♂	3. „	40,5	39,5
	4. „	41,5	38,9
	S	165,0	157,9
W. M.	1. Messung	41,0	41,0
40 J.	2. „	41,0	39,1
♂	3. „	41,0	38,8
	4. „	41,0	38,4
	S	164,0	157,3
A. K.	1. Messung	49,1	48,2
18 J.	2. „	49,1	48,4
♂	3. „	49,1	48,5
	4. „	49,1	48,5
	S	196,4	193,6
G. Sch.	1. Messung	37,2	34,6
21 J.	2. „	36,5	33,5
♂	3. „	37,2	34,4
	4. „	37,2	34,4
	S	148,1	136,9
G. Q.	1. Messung	39,3	38,4
60 J.	2. „	39,3	38,6
♂	3. „	39,3	37,2
	4. „	39,3	37,2
	S	157,2	151,4
B. L.	1. Messung	43,7	38,0
63 J.	2. „	43,7	40,7
♀	3. „	43,7	36,5
	4. „	43,7	39,4
	S	174,8	154,6

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Versuchsperson		Vor Strophanthin	Nach Strophanthin
R. R.,	1. Messung	54,2	53,5
25 J.,	2. „	54,2	52,7
♀	3. „	54,2	52,0
	4. „	54,2	53,0
	S	216,8	211,2
R. A.,	1. Messung	39,4	36,8
38 J.,	2. „	39,4	36,2
♀	3. „	39,4	36,0
	4. „	37,7	36,2
	S	155,9	145,2
F. K.,	1. Messung	38,4	37,4
44 J.,	2. „	38,4	38,4
♀	3. „	38,4	32,3
	4. „	38,4	35,2
	S	153,6	143,3
D. Sch.,	1. Messung	54,4	52,7
67 J.,	2. „	57,7	51,8
♀	3. „	57,7	50,9
	4. „	57,7	61,9
	S	227,5	217,3
L. M.,	1. Messung	52,4	52,0
27 J.,	2. „	52,4	51,4
♀	3. „	52,4	51,2
	4. „	52,4	50,4
	S	209,6	205,0
A. R.,	1. Messung	51,0	49,6
62 J.,	2. „	49,6	49,6
♀	3. „	49,0	49,6
	4. „	49,6	45,8
	S	199,2	194,6
	S	2520,1	2397,3
	M	45,1	42,8

Betrachtung der Mittelwerte ergibt, daß ein *Mittelwert von 45,1 ml/kg vor Strophanthin einem solchen von 42,8 ml/kg nach Strophanthin gegenübersteht.* Die statistische Auswertung muß zeigen, ob diese relativ geringen Unterschiede über den Zufallsbereich hinausgehen. Das zur Tab. 2 gehörende Varianzschema (Tab. 2a) läßt den auch hier hochsignifikanten Einfluß der Versuchspersonen erkennen. Aber auch die Strophanthinwirkung ist hochsignifikant. Der Zeitpunkt der Blutentnahme spielt auch hier keine Rolle. Das Reststreuungsquadrat beträgt in dieser Versuchsserie den 7,6. Teil des Gesamtstreuungsquadrates.

Bei 4 Vp. wurde die *Plasmaproteinkonzentration* vor und nach Strophanthingabe festgestellt. Eindeutige Veränderungen konnten nicht beobachtet werden. Auf die Wiedergabe der Meßwerte wird daher verzichtet. Dieses Verhalten war an sich zu erwarten. Einmal ist die Verminderung des P.V. nach Strophanthin eben doch sehr gering, zum anderen aber haben Lyons u. Mitarb. gezeigt, daß die Plasmaproteinkonzentration in sehr viel geringerem Maße Veränderungen des P.V. erkennen läßt als die direkte P.V.-Bestimmung.

Tabelle 2a. *Varianzschema zu Tabelle 2.*

Bestandteile der Streuung	Summe der Abweichungsquadrate	f	S^2	$\frac{S_x^2}{S_R^2}$	$F_{0{,}05}$	$F_{0{,}01}$	$F_{0{,}001}$
Vp.	4793,95	13	368,5	52,4***	2,14	2,94	4,22
Strophanthin .	134,47	1	134,47	19,1***	4,24	7,77	13,88
Zeitpunkt der Entnahme. .	6,97	3	2,32	0,33	2,99	4,68	7,45
Wechselwirkungen							
Vp.-Strophanthin	32,66	13	2,50	0,36	2,14	2,94	4,22
Vp.-Zeit . . .	78,18	39	2,00	0,28	1,87	2,45	3,37
Strophanthin-Zeit	7,1	3	2,36	0,34	2,99	4,68	7,45
Rest	176,3	25	7,05				
Gesamt	5229,63	97	53,9	$S = \pm 2{,}64$ ml/kg			

Schließlich war noch zu zeigen, daß *Strophanthinzusatz in vitro* die Evans Blau-Extinktion nicht ändert. In 8 Parallelversuchen mit und ohne Strophanthinzusatz ergaben sich keinerlei Unterschiede der Extinktion. Es ist daher nicht möglich, die beobachteten Strophanthineffekte auf eine Änderung der Extinktion des Evans Blau durch Strophanthin zu beziehen. Auf die tabellarische Wiedergabe der Meßwerte wird verzichtet.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Betrachtung der experimentellen Daten und ihre Auswertung mit Hilfe der Varianzanalyse zeigen, daß *nach Strophanthin* tatsächlich eine *Verminderung des P. V.* eintritt. Diese Verminderung ist aber nur sehr geringfügig. Sie beträgt im *Mittel 2,3 ml/kg, das sind etwa 160 ml bei einer Versuchsperson von 70 kg Körpergewicht.* Damit ist die Minderung des P. V. in diesen Versuchen sehr viel geringer als sie von Wollheim u. Mitarb. gefunden wurde. Führt doch Wollheim Befunde von I. u. R. Zissler an, wonach 30 min nach der intravenösen Injektion von 0,25 mg K-Strophanthin bei 12 gesunden Versuchspersonen eine Abnahme der aktiven Blutmenge im Mittel von 900 ml, d. h. etwa 500 ml Plasma bei Zugrundelegung eines normalen Hämatokritwertes eintrat. Nun bewirkt bekanntlich Digitalis am herzgesunden Menschen im allgemeinen eine Minderung des Herzminutenvolumens und damit natürlich auch eine Verlängerung der Mischungszeit. Nach den eingangs ausführlich dargelegten Abhängigkeiten der aktiven Blutmenge im Sinne

Wollheims von Herzminutenvolumen und Gesamtblutmenge darf man die Befunde Wollheims und seiner Mitarbeiter zum größeren Teil auf die noch nicht vollständige Durchmischung des Evans Blau mit dem Plasma, zum kleineren Teil auf die echte Verminderung des P. V., wie sie hier gefunden wurde, zurückzuführen.

Wenn man sich überlegt, wie *die Verminderung des P. V.* zustande kommt, so bieten sich im wesentlichen *2 Erklärungsmöglichkeiten* an. Einmal könnte durch eine *vermehrte Harnausscheidung* sekundär das P. V. verringert werden. Ferner könnte *Flüssigkeit aus der Blutbahn in den interstitiellen Raum* abströmen.

Auf Grund der Arbeiten von Farber u. Mitarb. ist an eine vermehrte Flüssigkeitsausscheidung durch die Niere als Teilursache der P.V.-Abnahme durch Strophanthin zu denken. Fanden diese Autoren doch auch beim Herzgesunden eine Vermehrung des Harnflusses nach 1,0—1,5 mg Digoxin i.v. Entsprechende Untersuchungen mit Strophanthin liegen allerdings noch nicht vor.

Die Arbeiten von Handley u. Telford sowie Chapman u. Handley lassen ferner daran denken, daß Flüssigkeit aus der Blutbahn in den interstitiellen Raum abströmt. Es wäre allerdings noch zu untersuchen, ob die Angaben der Autoren auch für die therapeutisch am Menschen angewandte Digitalisdosierung zutreffen.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von Strophanthin auf das P. V. beim herzgesunden Menschen untersucht. Dafür wurden Konzentrations-Zeitkurven an je 14 Versuchspersonen mit und ohne Strophanthinapplikation (0,35 mg K-Strophanthin) aufgestellt. Es fanden sich folgende Ergebnisse:

1. Nach 0,35 mg K-Strophanthin sinkt das spezifische P. V. im Mittel um 2,3 ml/kg ab.

2. Die Deutungsmöglichkeiten dieses Befundes werden erörtert. Dabei wird man einmal an eine vermehrte Harnbildung nach Strophanthinapplikation, ferner an ein gesteigertes Abfließen von Flüssigkeit in den interstitiellen Raum zu denken haben.

Literatur.

Chapman, D. W., u. C. A. Handley: J. Clin. Invest. **28**, 774 (1949). — Crooke, A. C., and C. I. O. Morris: J. of Physiol. **101**, 217 (1942). — Cruikshank, E. W. H., and I. C. Whitfield: Proc. Physiol. Soc. **103**, 198 (1944). — Degkwitz, R., I. u. R. Zissler: Z. klin. Med. **148**, 288 (1951). — Farber, S. I., I. D. Alexander, E. D. Pellegrino and D. P. Earle: Circulation IV, 378 (1951). — Gibson, I. G., and W. A. Evans: J. Clin. Invest. **16**, 301 (1937). — Gregersen, M. I.: J. Labor. a. Clin. Med. **29**, 1266 (1944). — Handley, C. A., and I. Telford: J. of Pharmacol. **89**, 97 (1947). — Lyons, R. H., S. D. Jacobson and I. L. Neerkin: J. Labor. a. Clin. Med. **30**, 404 (1945). — Mather, K., R. G. Bowler, A. C. Crooke and C. I. O. R. Morris: British J. of Exper. Pathol. **28**, 12 (1947). — Mies, H.: Z. Kreislaufforschg. **23**, 460 (1931). — **22**, 541 (1930). — Reiser, M.: Dtsch. med. Wschr. **1948**, 532. — Remmer, H.: Klin. Wschr. **1950**, 566. — Schwab, M: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 251 (1953). — Wollheim, E.: Verhandl. dtsch. Ges. inn. Med. **1928**, 390; **1929**, 352. — Z. klin. Med. **116**, 269 (1931). — Verh. dtsch. Gesellsch. Kreislauff. **16**, 75 (1950). — Dtsch. med. Wschr. **1950**, 482.

Dr. Max Schwab, Göttingen, Med. Univ.-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 271—277 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Der Einfluß von Strophanthin auf das Plasmavolumen beim herzinsuffizienten Menschen.

Von
Max Schwab.

(Eingegangen am 28. November 1952.)

In einer vorangegangenen Arbeit war die Beeinflussung des Plasmavolumens (P. V.) durch Strophanthin beim herzgesunden Menschen untersucht worden. Es hatte sich dabei eine geringfügige Abnahme des spezifischen P. V. von im Mittel 2,3 ml/kg ergeben. Als Erklärungsmöglichkeit wurde einmal an eine vermehrte Harnbildung gedacht, haben doch Farber u. Mitarb. auch am herzgesunden Menschen nach intravenösen Digoxingaben eine, allerdings mäßige, Vermehrung der Harnbildung gesehen. Entsprechende Untersuchungen für Strophanthin stehen allerdings noch aus. Zum anderen war ein vermehrter Abstrom von Flüssigkeit aus der Blutbahn in den interstitiellen Raum zu erwägen (Handley u. Telford, Chapman u. Handley). Auch hierüber liegen noch keine entsprechenden Untersuchungen am Menschen vor.

Es war nun noch der Einfluß von Strophanthin auf das P. V. am herzinsuffizienten Organismus zu untersuchen. Nach Wollheim findet sich die Abnahme der sogenannten aktiven Blutmenge nicht nur beim Herzgesunden, sondern in gleicher Weise auch beim Herzinsuffizienten. Dabei soll es bedeutungslos sein, um welche Art der Herzerkrankung es sich handelt. Über ähnliche Befunde berichtete auch Mies. Da die von Wollheim u. Mitarb. benutzte Methode zur Bestimmung des aktiven Blutvolumens nur jenes Verteilungsvolumen erfaßt, welches nach 3 bzw. 6 min — den Zeitpunkten der Blutentnahmen nach der Farbstoffinjektion — erreicht ist, ist das so ermittelte Volumen oft mehr oder weniger verschieden von dem tatsächlich vorhandenen P. V. Es war daher die Beeinflussung des letzteren durch Strophanthin auch am herzinsuffizienten Organismus noch zu untersuchen.

Methodik.

Es wurden Konzentrations-Zeitkurven an 14 herzinsuffizienten Versuchspersonen (Vp.) aufgenommen. Die Tab. 1 gibt eine Übersicht über Art und Ausprägung der vorhandenen Herzerkrankung. Im einzelnen wurde methodisch so verfahren,

wie es früher eingehend beschrieben wurde (Schwab). Von der Aufstellung von Konzentrations-Zeitkurven ohne Strophanthinapplikation wurde abgesehen, war doch anzunehmen, daß diese wie bei herzgesunden Vp. verlaufen würden. Bei 3 Vp. wurde die Plasmaproteinkonzentration vor und nach Strophanthingabe bestimmt.

Ergebnisse.

Der Verlauf der Konzentrations-Zeitkurven unter Strophanthin unterschied sich bei den herzinsuffizienten Versuchspersonen nicht von den früher bereits mitgeteilten Kurven bei herzgesunden Versuchspersonen. Es wird daher auf eine abermalige Wiedergabe verzichtet. Es sei allerdings noch bemerkt, daß sich unter 14 Versuchspersonen in 3 Fällen keine Änderung der Konzentrations-Zeitkurve nach Strophanthin fand.

In Tab. 1 sind die bei den 14 herzinsuffizienten Versuchspersonen erhobenen Befunde zusammengestellt. Dabei ist das P. V. einmal auf Kilogramm Körpergewicht unter Einschluß der am Versuchstag vorhandenen Ödeme, zum anderen auf Kilogramm Körpergewicht nach Ausscheidung der Ödeme bezogen. Wenn auch dem Gebrauch dieser Bezugsgrößen noch mancherlei Bedenken gegenüberstehen, so ist diese Art der Berechnung doch der Verwendung der Körpergröße als Bezugssystem vorzuziehen. Letzteres wurde von Gibson u. Evans, Kaltreider u. Meneely sowie Perera verwendet. Eine Betrachtung der Mittelwerte zeigt, daß sich bei *Bezug auf Kilogramm Körpergewicht ohne Ödem* mit einem *Mittelwert von 47,11 ml/kg geringfügig höhere Werte* ergeben, *als sie* Gregersen *mit 45,0 ml/kg für gesunde Versuchspersonen mitteilt.* In eigenen Untersuchungen an 28 normalen Versuchspersonen fand sich ein Mittelwert von 45,9 ml/kg. Die Durchführung des Fisherschen T-Testes an dem vorliegenden Material ergab weder bei dem Vergleich mit dem Normalwert von Gregersen noch bei Vergleich mit den eigenen Normalwerten Signifikanz. Es ist möglich, daß bei einer Vermehrung des Versuchsmaterials der zweifellos nicht hochgradige Unterschied sich doch noch sichern ließe. Die mitgeteilten Werte zeigen jedenfalls, daß die Erhöhung des P. V. bei Herzinsuffizienz nicht so hochgradig ist, wie oft angenommen wird. In diesem Zusammenhang seien auch die Arbeiten von Nylin u. Hedlund, Ross, Baker u. Freis sowie Prentice u. Mitarb. genannt, in denen normale oder nur geringfügig erhöhte P. V.-Werte mitgeteilt werden.

Dem in Tab. 2 wiedergegebenen Varianzschema liegen die aus den 14 Konzentrations-Zeitkurven berechneten spezifischen P. V.-Werte in Abhängigkeit von Versuchsperson, Strophanthin und Zeitpunkt der Messung zugrunde. Da für diese Auswertung die Frage der Bezugsgröße keine Rolle spielt, wurden die P. V.-Werte auf Kilogramm Körpergewicht ohne Abzug der Ödeme berechnet. *Der Mittelwert vor Strophantin betrug in dieser Untersuchungsreihe 43,4 ml/kg gegenüber 41,3 ml/kg nach*

Tabelle 1. *Plasmavolumen bei Herzinsuffizienz.*

Alter	Größe m	Gewicht mit (ohne) Ödem kg	Klinische Diagnose	Plasmavolumen ml	Plasmavolumen mit (ohne) Ödem ml/kg
65 J.	1,54	81 (75)	Dekompensierte Hypertonie Leber + Ödeme +	2945	30,8 (33,2)
50 J.	1,74	81,4 (79)	Myodegeneratio cordis Leber (+) Ödeme (+)	3460	42,5 (43,8)
63 J.	1,72	82,3 (79)	Dekompensierte Hypertonie Leber + Ödeme +	3070	37,3 (38,9)
68 J.	1,75	96,6 (80)	Myodegeneratio cordis Leber + +; Ascites + + Dyspnoe + + +; Ödeme + + +	4300	44,6 (53,8)
72 J.	1,55	54,5 (53)	Herzinsuffizienz bei a. v. Block Leber + Ödeme +	2490	45,7 (47,0)
68 J.	1,68	70 (66)	Herzinsuffizienz mit absoluter Arrhythmie Dyspnoe + Leber + Ödeme +	2910	41,6 (44,1)
54 J.	1,83	80 (73)	Dekompensiertes komb. Mitralvitium Dyspnoe + + Leber + Ödeme +	4200	52,4 (57,5)
53 J.	1,72	67 (62)	Myodegeneratio cordis; Vorder- u. Hinterwand-Infarkt Lungenstauung + + Leber + + Ödeme (+)	3140	46,9 (50,6)
27 J.	1,78	73 (65)	Dekompensiertes Mitralvitium Leber + + Ascites + + Ödeme +	3740	51,2 (57,5)
58 J.	1,51	70 (67)	Dekompensiertes komb. Mitralvitium Leber (+) Anstrengungsdyspnoe Cyanose	2540	36,3 (37,9)

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Alter	Größe m	Gewicht mit (ohne) Ödem kg	Klinische Diagnose	Plasmavolumen ml	Plasmavolumen mit (ohne) Ödem ml/kg
53 J.	1,61	55 (51)	Dekompensiertes komb. Mitralvitium Lungenstauung + Leber ++ Ödeme +	2645	48,1 (51,9)
58 J.	1,52	53 (49)	Myodegeneratio cordis Leber + Ödeme +	2760	52,1 (56,4)
60 J.	1,56	70 (63)	Dekompensierte Hypertonie Leber + Ödeme ++	2870	41,0 (45,5)
49 J.	1,58	93 (84)	Dekompensiertes komb. Mitralvitium Dyspnoe ++ Leber ++ Ödeme (+)	3480	37,4 (41,4)
			Mittelwerte	3150	43,42 (47,11 ± 2,01)

Tabelle 2. *Varianzschema. Spezifisches Plasmavolumen (ml/kg) in Abhängigkeit von Versuchsperson, Strophanthin und Zeitpunkt der Messung bei herzinsuffizienten Versuchspersonen.*

Bestandteil der Streuung	Summe der Abweichungsquadrate	f	S^2	$\frac{S_x^2}{S_R^2}$	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$F_{0,001}$
Versuchsperson	4622,5	13	355,6	524,0***	2,14	2,94	4,27
Strophanthin .	138,4	1	138,4	204,0***	4,24	7,77	13,88
				+32,75***	4,67	9,07	17,81
Zeitpunkt . .	2,2	3	0,73	1,07	2,99	4,68	7,45
Wechselwirkung.							
Versuchsperson-Strophanthin	55,1	13	4,23	6,23***	2,14	2,94	4,27
Versuchsperson-Zeit . . .	19,7	39	0,50	0,74	1,87	2,45	3,37
Strophanthin-Zeit . . .	2,8	3	0,93	1,37	2,99	4,68	7,45
Rest	17,0	25	0,68				
Gesamt . . .	4857,7	97	50,1	$S = \pm 0{,}83$ ml/kg			

+ getestet gegen das Wechselwirkungs („Versuchsperson — Strophanthin") — Streuungsquadrat.

Strophanthin. Auch hier besteht also, wie bei den herzgesunden Versuchspersonen, zwischen den beiden Gruppen vor und nach Strophanthinapplikation nur ein geringer Unterschied. Die *statistische Auswertung* muß daher zeigen, ob die genannten Unterschiede über den Zufallsbereich hinausgehen. Das in Tab. 2 wiedergegebene Varianzschema läßt wiederum den hochsignifikanten Einfluß von Versuchspersonen und Strophanthin erkennen. Im Falle des Strophanthins ist auch hier, wie früher bei den herzgesunden Versuchspersonen, die Testung gegen das Wechselwirkungsstreuungsquadrat hoch signifikant. Der nachgewiesene Strophanthineffekt gilt also nicht nur für die untersuchten herzinsuffizienten Versuchspersonen, sondern ist auch bei einer neuen Versuchsreihe an anderen herzinsuffizienten Patienten in gleicher Weise zu erwarten. Der Zeitpunkt der Blutabnahme spielt wiederum keine Rolle. Von den Wechselwirkungen ist hier diejenige zwischen Versuchsperson und Strophanthin hoch signifikant. Dieses bedeutet, daß die einzelnen Versuchspersonen auf Strophanthin sehr unterschiedlich reagieren.

Das Reststreuungsquadrat betrug in diesen Versuchen nurmehr den 75. Teil des Gesamtstreuungsquadrates. Die Reststreuung $s = \pm 0{,}83$ ml/kg ist daher besonders niedrig. Es mag darin zum Ausdruck kommen, daß der methodische Fehler durch die Eingewöhnung weiter verringert worden ist. Wurden die Messungen an den herzinsuffizienten Pat. doch überwiegend gegen Schluß der Untersuchungen vorgenommen.

Bei 3 Vp. wurde das Verhalten der Plasmaproteinkonzentration vor oder nach Strophanthingabe untersucht. Auch hier wurden, wie bei den herzgesunden Vp., keine eindeutigen Veränderungen festgestellt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die experimentellen Daten und ihre Auswertung zeigen, daß *in gleicher Weise wie beim herzgesunden auch am herzinsuffizienten Menschen nach Strophanthin eine Verminderung des P. V.* eintritt. Sie beträgt *im Mittel 2,1 ml/kg*. Dieser Wert stimmt weitgehend mit dem bei Herzgesunden überein. Bei den einzelnen Versuchspersonen ist die Strophanthinwirkung allerdings sehr unterschiedlich ausgeprägt.

Die Minderung des P. V. ist also wiederum sehr viel geringer als in den von Wollheim berichteten Fällen. Gibt doch Wollheim eine Verminderung des Blutvolumens von im Mittel 700 ml bei 18 plusdekompensierten Versuchspersonen nach intravenöser Digipuratgabe (2 ml) an. Dies würde bei Zugrundelegung eines normalen Hämatokritwertes etwa 400 ml Plasma entsprechen. Während nun aber im Falle der herzgesunden Versuchspersonen die Befunde Wollheims und seiner Mitarbeiter mit den eigenen Befunden ohne Schwierigkeit durch die Annahme einer Verlängerung der Mischungszeit nach Strophanthinapplikation in Einklang gebracht werden können, gelingt dies bei den herzinsuffizienten Fällen nicht. Bewirken doch im Fall der Herzinsuffizienz Strophanthin

wie Digitalis eine Erhöhung des Herzminutenvolumens und damit eine Verkürzung der an sich im Zustand der Herzinsuffizienz verlängerten Mischungszeit. Da Wollheim u. Mitarb. 3 bzw. 6 min nach Farbstoffgabe die erforderlichen Blutproben entnehmen, wäre daher eher eine Erhöhung des erfaßten Verteilungsvolumens nach Digitalisgaben zu erwarten. Die Befunde einer Verminderung der aktiven Blutmenge im angeführten Ausmaß ließen sich daher nur dann erklären, wenn die so bedingte Vermehrung des Verteilungsvolumens durch eine erhebliche Verminderung des Gesamt-P. V. mehr als ausgeglichen würde.

Entsprechende Untersuchungen des Gesamt-P. V. unter Digipurat liegen noch nicht vor. Es ist aber unwahrscheinlich, daß sich gegenüber den hier mit Strophanthin vorgelegten Befunden wesentliche Unterschiede ergeben werden. Mit der Evans Blau-Methode, die von Degkwitz, I. und R. Zissler bei herzgesunden Vp. angewandt wurde, sowie Strophanthinapplikation liegen bezüglich herzinsuffizienter Vp. aus diesem Arbeitskreis noch keine Veröffentlichungen vor.

Für die Entstehung der P. V.-Verminderung bei Herzinsuffizienz nach Strophanthingaben sind dieselben Erklärungsmöglichkeiten wie im Fall der herzgesunden Vp. zu erwägen. Vor allem wird man die nach Digitalis auftretende Diuresesteigerung zu beachten haben. Liegt doch über die Beeinflussung der Nierenfunktion durch Digitalis an herzinsuffizienten Pat. eine ausführliche Arbeit von Eichna und Mitarbeitern vor. Die genannten Autoren untersuchten neben den hämodynamischen Veränderungen besonders eingehend verschiedene Nierenfunktionen (Glomerulusfiltrat, renaler Plasmafluß, Urinfluß/min., Natrium- und Chloridausscheidung) nach i. v. Gaben von 1,0—1,5 mg Digoxin. Dabei fand sich bei allen Vp. eine deutliche Diuresesteigerung, welche weit über die bei gesunden Vp. von Farber und Mitarbeitern gefundene Vermehrung der Harnbildung hinausging. Wenn auch für Strophanthin bisher ähnlich ausführliche Untersuchungen noch nicht bekannt geworden sind, so darf man wohl mit entsprechenden Wirkungen rechnen.

Ob auch eine Vergrößerung des interstitiellen Flüssigkeitsvolumens stattfindet, ist bisher noch nicht untersucht.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von Strophanthin auf das Plasmavolumen an 14 herzinsuffizienten Patienten untersucht. Es wurden Konzentrations-Zeitkurven aufgestellt, wobei jeweils im Abstand von 15 min eine Blutentnahme, im ganzen 8 Blutentnahmen, vorgenommen wurden. 45 min nach der ersten Blutentnahme wurde 0,35 mg K-Strophanthin injiziert. Es fanden sich folgende Ergebnisse:

1. Nach Strophanthin sinkt das spezifische Plasmavolumen im Mittel um 2,1 ml/kg ab.

2. Als Erklärungsmöglichkeit ist vor allem an die Diuresesteigerung zu denken, wie sie auch nach Strophanthin anzunehmen ist. Außerdem ist ein vermehrter Flüssigkeitsabstrom in den interstitiellen Raum zu erwägen.

Literatur.

Chapman, D. W., u. C. A. Handley: J. Clin. Invest. **28**, 774 (1949). — Degkwitz, R., I. u. R. Zissler: Z. klin. Med. **148**, 288 (1951). — Eichna, L. W., S. I. Farber, A. R. Berger u. Mitarb.: I. Clin. Invest. **30**, 1250 (1951). — Farber, S. I., I. D. Alexander, E. D. Pellegrino and D. P. Earle: Circulation IV, 378 (1951). — Gibson, I. G., and W. A. Evans: J. Clin. Invest. **16**, 851 (1937). — Handley, C. A., u. I. Telford: J. of Pharmacol. and Exper. Therap. **89**, 97 (1947). — Meneely, G. R., and N. L. Kaltreider: J. Clin. Invest. **22**, 521 (1943). — Mies, H.: Z. Kreislaufforschg. **23**, 460 (1931). — Nylin, G., and S. Hedlund: Amer. Heart J. **33**, 770 (1947). — Perera, G. A.: J. Clin. Invest. **24**, 708 (1945). — Prentice, T. C., N. I. Berlin, G. M. Hyde, R. I. Parsons, I. H. Lawrence and S. Port: J. Clin. Invest. **30**, 1471 (1951). — Ross, I. F., W. H. Baka and E. D. Freis: J. Clin. Invest. **29**, 842 (1950). — Schwab, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 251, 262 (1953). — Wollheim, E.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1928**, 390; **1929**, 352. — Z. klin. Med. **116**, 269 (1931). — Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg. **16**, 75 (1950). — Dtsch. med. Wschr. **1950**, 482.

Dr. Max Schwab, Göttingen, Med. Univ.-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 278—285 (1953).

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin-West.

Die Verteilung von Sulfanilsäure und Sulfonamiden beim nierenlosen Hund.

Ein Beitrag zu den Gesetzmäßigkeiten von Verteilungsvorgängen im Körper.

I. Mitteilung.

Von

HEDWIG LANGECKER.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 24. November 1952.)

An der Verteilung eines Stoffes im Körper sind Diffusions- und Adsorptionsvorgänge beteiligt. Der Endzustand der Verteilung wird durch Löslichkeits- und Adsorptionsgleichgewichte bestimmt. Zum Verfolgen der Verteilung eines Stoffes im Organismus ist die Untersuchung des Konzentrationsablaufes im Blut gebräuchlich. Die Blutkonzentration hängt ab von Dosis, Resorption, Adsorption an die Blut- und Gewebseiweißkörper, Gewebsabwanderung und Elimination. Bei intravenöser Verabreichung von Stoffen kann man bei Ausschaltung der Niere aus dem Verlauf des Blutkonzentrationsabfalles Geschwindigkeit und Ausmaß der Abwanderung ins Gewebe erkennen.

Der Verlauf der Verteilungs- und Eliminationsvorgänge im Organismus gehorcht, wie die meisten biologischen Konzentrationsabläufe, einer Exponentialfunktion, deren mathematische Darstellung von THEORELL[1] und DRUCKREY[2] bearbeitet wurde. DOST[3], THER[4] und SOEHRING[5] haben versucht, aus graphischer Wiedergabe von Konzentrationsabläufen in halblogarithmischem System oder unter Benutzung von Wahrscheinlichkeitspapier (das auf der Ordinate nach dem GAUSSschen Wahrscheinlichkeitsintegral in Prozente unterteilt ist), für die Elimination einzelner Stoffe charakteristische Konstanten („Halbwertszeiten") zu gewinnen. Wenn man nach dem Vorschlage von DOST nach intravenöser Verabreichung eines Stoffes die Logarithmen der Blutspiegel zur Zeit in Beziehung setzt, erhält man eine gewinkelte Gerade. Anfangs sinkt der Blutspiegel rasch ab. Nach Eintritt des Verteilungsgleichgewichtes vollzieht sich ein gleichmäßiger Abfluß des Stoffes vom Gewebe über das Blut in die Eliminationsorgane. Der Blutspiegelabfall im ersten Teil der Kurve ist ein Maßstab für Ausmaß und Geschwindigkeit der Verteilung. Durch Extrapolieren des zweiten Teiles der Blutspiegelkurve in die Zeit O erhält man einen fiktiven Blutspiegel C_{t_0}, der sich ergeben würde, wenn unmittelbar nach der Injektion zwischen

Blut und Gewebe Verteilungsgleichgewicht einträte, und das relative Verteilungsvolumen/kg entspricht nach Houck[6] $\frac{\text{Dosis in mg/kg mal 100}}{\text{mg\% Plasma } C_{t_0}}$ cm³. Diese Darstellung von Verteilungs- und Eliminationsvorgängen, der sich auch Clerc[7] bei der Untersuchung einzelner Sulfonamide und ihrer Kombinationen bediente, ist insofern unbefriedigend, als der steile Ablauf der Kurve die Verteilung nicht rein erkennen läßt, da die ja gleichzeitig stattfindende Elimination die Verteilungsvorgänge überdeckt. Es schien daher wünschenswert, die Verteilung unter Ausschaltung der Elimination zu untersuchen.

Es wurden als Modell die leicht nachweisbaren Sulfonamide und die diesen nahestehende Sulfanilsäure benutzt. Da der Hund, an dem die Versuche durchgeführt wurden, Sulfonamide nicht acetyliert, kann man mit der Methode von Bratton u. Marshall[8] in nicht hydrolisiertem Blut bei Enteiweißung mit Trichloressigsäure in 100facher Verdünnung (zur Vermeidung von Adsorptionen an dem Eiweißniederschlag) Blutspiegel von 10 mg% noch sehr verläßlich bestimmen. Diese Methode erfaßt lediglich die aromatische Aminogruppe und läßt Veränderungen im Sulfonamidmolekül unberücksichtigt. Von den untersuchten Verbindungen: Sulfanilamid, Sulfanilacetamid, Sulfapyridin, Sulfa-4-methylpyrimidin, Sulfaäthylthiodiazol, Sulfathiazol und Sulfanilsäure kam als mögliche Veränderung des Stoffwechsels nur bei Sulfapyridin Oxydation und Paarung an Glucuronsäure in Frage und bei N_1-Acetylsulfanilamid eine Carbonsäureamidspaltung (Langecker[9]). Bei diesen beiden Sulfonamiden stellt die Blutkonzentration einen Summenwert dar, während bei den anderen Substanzen stoffliche Veränderungen keine Rolle spielen. Die Ausschaltung der Elimination in unseren Versuchen bezieht sich nur auf die Niere. Bekanntlich ist der Anteil anderer Eliminationswege bei Sulfonamiden sehr gering. Dies beweist auch der am nierenlosen Hund nach etwa 50 min nahezu horizontale Verlauf der Blutspiegelkurven bei den untersuchten Verbindungen. (Eintritt des Verteilungsgleichgewichtes.)

Methode: An großen Hunden wurden in tiefer Urethannarkose (1,2 g/kg) nach Abbinden des Nierentiels beide Nieren exstirpiert. Die Stoffe wurden zu 78 mg/kg i.v. verabreicht und nach 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 100, 120, 240 min je 2 cm³ Blut aus der Carotis abgenommen und jedesmal etwas Kochsalz nachgespritzt. Erfahrungsgemäß ist bei i.v. Injektion eines Stoffes eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes und damit die auswertbare Höchstkonzentration nach 3—6 Blutumläufen erreicht. Die Dosis wurde so gewählt, daß sie, soweit eine Umrechnung für den Menschen gestattet ist, etwa einer Einzeldosis von 5 g Sulfonamid entspricht.

Bei der Darstellung des Blutkonzentrationsverlaufes im halblogarithmischen System sieht man einen ersten steilen und einen zweiten flacheren Kurventeil mit einem Knickpunkt bei etwa 20 min. Nach 50 min

verlaufen die Kurven nach einem zweiten Knick nahezu horizontal (Abb. 1). Wenn man diesen beiden ersten Kurventeilen entsprechend den Blutspiegel zur Zeit Null extrapoliert, erhält man einen fiktiven Blutspiegel $C_{to\,20}$ bzw. $C_{to\,50}$ und die entsprechenden fiktiven Verteilungsvolumina (Tab. 1). Das aus dem Schlußteil der Kurve errechnete Verteilungsvolumen ist bei den einzelnen Verbindungen verschieden groß. Wenn man die Verteilungsvolumina nach 20 min in Prozenten des endgültigen Volumens (dem Verteilungsgleichgewicht entsprechend) ausdrückt, ergibt sich, daß in den ersten 20 min 63—81% des in Betracht

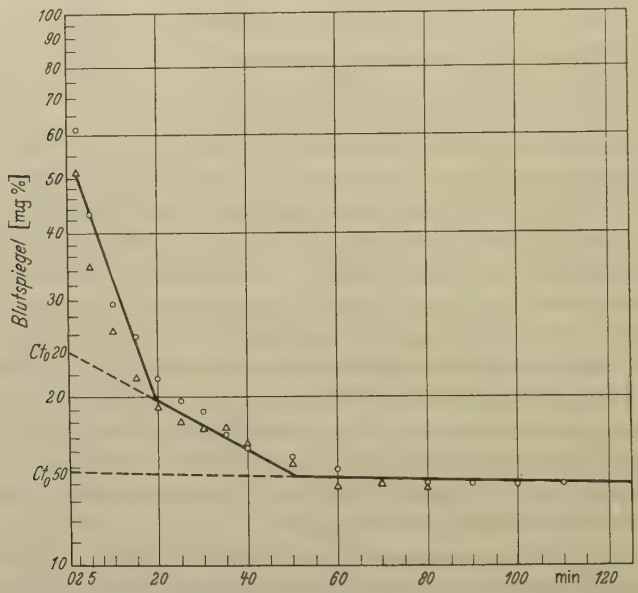


Abb. 1. Blutspiegelabfall beim nierenlosen Hund nach i. v. Gabe von 78 mg/kg Sulfa-4-methylpyrimidin; zwei verschiedene Versuche ○ und △.

kommenden Raumes besetzt werden, während von 20—50 min der Zuwachs nur 19—37% beträgt (Tab. 1, Spalte 8). Im weiteren Verlauf ist der Zuwachs zu vernachlässigen.

Die verschiedene Neigung der Kurventeile ist entweder der Ausdruck von verschiedenen, zeitlich aufeinanderfolgenden Vorgängen oder aber die Resultante mit verschiedener Geschwindigkeit gleichzeitig ablaufender Prozesse, und Ausdruck dafür, daß von 2 verschieden rasch ablaufenden Vorgängen der eine nach 20 min praktisch beendet ist, während der langsamere noch bis etwa 50 min nachweisbar bleibt.

Man könnte daran denken, daß die Stoffe nach und nach verschiedene Räume in Beschlag legen, die durch „Schranken" und Membranen getrennt sind. Wenn aber z. B. Lymphräume rascher besetzt würden als Zellen, dann müßten Verbindungen, die sich vorwiegend extracellular verteilen, in den ersten 20 min den

Tabelle 1. *Verteilung von Sulfonamiden und Sulfanilsäure beim nierenlosen Hund.*

Vers.-Nr.	Verbindung	Gew. d. Hundes kg	mg/kg i. v.	nach 20 min				nach 50 min				In der Blutwasserphase vorhandener Anteil (nach WITZGALL) %
				Blutspiegel mg%		Verteilungsvolumen		Blutspiegel mg%		Verteilungsvolumen		
				wahrer	extrapol. t_o	% Körpergewicht	% d. n. 50 min erreichten	wahrer	extrapol. t_o	% Körpergewicht	Mittel	
1	Sulfanilsäure . .	14,4	78	34,4	40,5	19,3		27,0	28,0	28,9		
2	„ . .	12,8	78	36,4	41,5	18,8		28,0	27,0	27,5		
3	„ . .	17,6	156	52,4	56,5	27,6	71,0	46,6	46,7	33,5	29 + 1,4	77,0
4	„ . .	11,2	156	77,0	89,0	17,5		62,0	62,0	25,2		
5	„ . .	15,2	39	16,8	19,7	19,8		13,1	13,1	29,8		
6	Sulfanilacetamid .	8,6	78	25,2	29,2	26,7		19,6	19,8	39,4		
7	„ .	17,0	78	25,2	29,2	26,7	67,4	19,8	19,6	39,8	39,6 + 0,2	—
8	Sulfa-4-methyl-pyrimidin . . .	8,4	78	21,6	27,0	28,9		15,6	15,6	50,0		
9	Sulfa-4-methyl-pyrimidin . . .	8,0	78	19,2	22,5	34,7	63,0	15,2	15,2	51,3	50,7 ± 0,65	26,0
10	Sulfathiazol . . .	13,5	78	17,4	17,5	44,6		14,2	14,2	54,9		
11	„ . . .	18,4	78	16,1	20,2	38,6	75,0	13,7	13,8	56,5	55,7 ± 0,8	30,0
12	Sulfaäthyl-thiodiazol . . .	8,2	78	17,6	21,0	37,1		15,8	15,8	49,4		
13	Sulfaäthyl-thiodiazol . . .	8,9	78	18,3	20,2	38,6	68,0	12,3	12,4	62,9	56,1 ± 7,8	12,0
14	Sulfapyridin . . .	14,7	78	12,7	14,3	54,6		10,6	10,6	73,6		
15	„ . . .	17,2	78	14,8	16,4	47,6	76,0	12,6	12,6	61,9	67,7 ± 5,8	30,0
16	Sulfanilamid . . .	15,5	78	12,7	13,6	57,3		12,4	12,4	62,9		
17	„ . . .	18,5	78	13,1	14,7	53,0		10,8	10,8	72,2		
18	„ . . .	18,1	156	24,0	30,5	51,2	81,0	24,0	24,0	65,0	69,2 ± 3,7	34,0
19	„ . . .	10,7	156	20,4	24,8	63,0		20,3	20,3	76,9		

größten Teil des verfügbaren Raumes besetzen. Die Tatsachen widersprechen einer solchen Deutungsmöglichkeit. So erreicht die Sulfanilsäure, die vorwiegend im Extracellularraum verbleibt, in den ersten 20 min 71% des verfügbaren Raumes, und Sulfanilamid mit einem starken Zelleindringungsvermögen besetzt in der gleichen Zeit 81%.

An der Verteilung eines intravenös injizierten Stoffes ist in erster Linie die Durchmischung der Körpersäfte durch Blut- und Lymphkreislauf beteiligt. Man kann annehmen, daß diese Durchmischung in wenigen Minuten beendet ist. Das Eindringen in die Zelle erfolgt wegen der Kürze der Diffusionswege und weil die bei diesen Vorgängen wesentlich beteiligten Adsorptionsvorgänge zeitlos sind, außerordentlich rasch. Auch die akute Wirkung intravenös verabreichter Stoffe ist ohne die Annahme eines raschen Eindringens praktisch unverständlich. Es entspricht vermutlich dem ersten steileren Kurvenanteil die Verteilung in einen leicht erreichbaren Raum aus extracellulären und intracellulären Anteilen mit je nach der untersuchten Substanz wechselnder Beteiligung von Adsorptionsvorgängen und der zweite flachere Teil der Verteilung in einen Raum aus schwerer erreichbaren, extra- und intracellulären Anteilen mit Überwiegen von Diffusionsvorgängen. (Der kolloidarme Subarachnoidalraum, die Vorderkammer, gefäßarme und -lose Gewebe, Knorpel, Cornea.)

Daß Adsorptionsmöglichkeiten Verteilungsvorgänge maßgebend beeinflussen, zeigen die von Fisher[10] für Sulfonamide ermittelten Verhältniszahlen Liquorkonzentration/Blutkonzentration bei normalen Personen: Sulfanilsäure 0,03, Sulfanilacetamid 0,05, Sulfamethylpyrimidin 0,38, Sulfathiazol 0,1, Sulfapyridin 0,6 und Sulfanilamid 0,7. Leicht adsorbierbare Verbindungen erreichen höhere Konzentrationen im Liquor als bevorzugt im Blutwasser verteilte. Der geringe Kolloidgehalt des Liquors setzt die Adsorptionsmöglichkeiten herab. Entsprechend dem höheren Kolloid- und Zellgehalt entzündlichen Liquors fand Witzgall[11] nach Verabreichung von Sulfaäthylthiodiazol im Liquor 50% der Blutkonzentration gegenüber 10% bei normalen Personen.

Die Neigung des zweiten flacheren Kurventeils ist bei den untersuchten Verbindungen ziemlich gleichartig (vgl. wahre Blutspiegel 20 und 50 min, Tab. 1). Man kann bei ganz schwachen bis stark dissoziierten Säuren mit ähnlichen Molekulargewichten auch ähnliche Diffusionsverhältnisse erwarten. Hingegen wird bei Adsorptionsvorgängen die unterschiedliche Dissoziation auch verschieden starke Adsorption bedingen.

Nach dem maximalen Verteilungsvolumen (cm^3/kg) geordnet, ergibt sich folgende ansteigende Reihe: Sulfanilsäure 292, Sulfanilacetamid 396, Sulfamethylpyrimidin 507, Sulfathiazol 557, Sulfaäthylthiodiazol 661, Sulfapyridin 675 und Sulfanilamid 692. Die Streuung der Versuchsergebnisse ist gering. Durch die Ausschaltung der Niere wird aus dem Fließgleichgewicht ein weitgehend stationäres.

Witzgall hat in ausgedehnten Untersuchungen mit Menschenblut in vitro für zahlreiche Sulfonamide die Verteilung auf Blutwasser, Plasmaeiweiß und Erythrocyten bestimmt. Wenn man unter Übertragung der

Ergebnisse Witzgalls auf den Hund (die nach orientierenden Versuchen möglich ist) für die nach 50 min vorliegenden Blutspiegel den auf Blutwasser entfallenden prozentualen Anteil betrachtet (Tab. 1, letzte Spalte), so ergibt sich, daß bei Sulfanilsäure das Verteilungsgleichgewicht stark zugunsten der Wasserphase verschoben ist, während es bei Sulfanilamid und den heterocyclisch substituierten Verbindungen auf Seite der Bindung an Bluteiweißkörper liegt. Sulfaäthylthiodiazol ist infolge einer starken Adsorption an Plasmaeiweiß (was auch für das Hundeblut gilt) besonders spärlich in der Wasserphase anzutreffen. Für Sulfanilacetamid hat Witzgall kein Verteilungsdiagramm angegeben, wohl aber beobachtet, daß der ultrafiltrable Anteil wie bei Sulfanilsäure 90—95% der Plasmakonzentration beträgt, während er bei den übrigen Verbindungen nur 20—60% ausmacht. Wir konnten in orientierenden Versuchen mit Hundeblut gleichfalls feststellen, daß sich Sulfanilacetamid bei der Ultrafiltration wie Sulfanilsäure verhält.

Es ergibt sich demnach, daß Sulfanilsäure vorwiegend in der wäßrigen Phase verteilt ist. Sie erreicht ein niedriges Verteilungsvolumen. Sulfanilacetamid verhält sich in vitro der Sulfanilsäure sehr ähnlich. Das damit scheinbar in Widerspruch stehende größere Verteilungsvolumen dürfte mit dem Auftreten von Sulfanilamid zusammenhängen.

Der Hund vermag Sulfonamide in N_4-Stellung nicht zu acetylieren und entacetylieren. Dagegen kommt beim Hund die Carbonsäureamidspaltung an N_1 zustande: Von 1,66 g/kg Acetylsulfanilamid i.v. wurden bei einem 13 kg schweren Hund in 24 Std 83,5% ausgeschieden und davon 38% als Sulfanilamid.

Die anderen Verbindungen sind in annähernd gleich niedriger Konzentration in der wäßrigen Phase anzutreffen, sie werden beachtlich adsorbiert und unterscheiden sich auch hinsichtlich der maximalen Verteilungsvolumina kaum. Sie werden auch intracellulär verteilt sein, da sie offenbar nicht nur leicht eindringen, sondern auch an den Formelementen der Zelle adsorbiert werden. Dies ist wohl auch der Grund der größeren Giftigkeit und Wirksamkeit dieser Gruppe von Sulfonamiden.

Zur Beurteilung der ermittelten Verteilungsvolumina seien Literaturangaben zum Vergleich angeführt: Fisher[10] ermittelte an der nierenlosen Katze für Sulfonamide folgende Verteilungsvolumina: (% Körpergewicht) Sulfanilsäure 28,7, Sulfanilacetamid 55,0, Sulfapyridin 82,5, Sulfamethylpyrimidin 46, Sulfathiazol 58,5 und Sulfanilamid 98. Die zum Teil wesentlich höher liegenden Werte, insbesondere der für Sulfanilamid. sind unwahrscheinlich. Die verabreichten Mengen waren 10 bis 28 mg/kg und die damit erzielten Blutspiegel entsprechend niedrig, so daß die Bestimmung an die Grenze der Verläßlichkeit gerät. Außerdem acetyliert die Katze Sulfonamide, so daß diese Stoffwechselreaktion bei allen Verbindungen die Befunde beeinflussen wird. Das Gesamtkörperwasser beträgt nach Edelmann[12] beim Mann 62% des Körpergewichts, das Verteilungsvolumen für Thiosulfat 16,8% für Thiocyanat 23,5%. Elkinton[13] bestimmte beim Menschen das Verteilungsvolumen für Mannitol (auf der Grundlage des Serumwasserspiegels) mit 18,7 bis

23% des Körpergewichts. Nach Levine[14] beträgt das Gesamtkörperwasser des Hundes 75%. Dies stellt die obere Grenze der Verteilungsmöglichkeit dar. Das Plasmavolumen des Hundes verträgt nach Bloodworth[15] 6,7—7,2%. Der Rhodanraum beträgt nach Gregersen[16] beim Hund 23—42,5%, nach Eichler[17] 28—41% und nach Bloodworth[15] 34,1 —42,3%. Der Mannitolraum beträgt beim Hund nach Bloodworth[15] 25,8—27,3%.

Der für Sulfanilsäure von uns gefundene Wert von 29% bedeutet demnach eine bevorzugt extracelluläre Verteilung. Sie wird wenig adsorbiert und besetzt vorwiegend den Wasserraum, wobei der intracelluläre Wasserraum schwer erreichbar ist. Die heterozyklisch substituierten Sulfonamide sind auch intracellulär verteilt und Sulfanilamid erreicht fast die obere Grenze der möglichen Verteilung. Dies stimmt mit der Angabe von Painter[18] überein, der für Sulfanilamid und Harnstoff sehr ähnliche Verteilungsvolumina feststellte (67% resp. 63% nach 55 mg/kg i.v. beim Hund).

Um zu entrscheiden, ob die Verteilungsvolumina der einzelnen Verbindungen von der Konzentration des verabreichten Stoffes abhängig sind, wurden bei Sulfanilsäure Versuche mit der doppelten (Versuch Nr. 3 und 4) und halben Dosis (Versuch Nr. 5), bei Sulfanilamid mit der doppelten Dosis (Versuch Nr. 18 und 19) ausgeführt (Tab. 1). Auch unter diesen Bedingungen liegt das Verteilungsvolumen für Sulfanilsäure und Sulfanilamid sehr ähnlich dem bei der einfachen Dosis ermittelten, trotzdem Hunde verschiedenen Alters, Geschlechts, Rasse und Ernährung verwendet wurden, so daß man annehmen kann, daß die Verteilung (in dem untersuchten Konzentrationsbereich) dosenunabhängig und nur geringer Streuung unterworfen ist. Dagegen scheint, wie aus Versuchen von Drechsler[19] hervorgeht, die Elimination selbst bei demselben Individuum stark mit der Stoffwechsellage zu schwanken.

Trotz zahlreicher, an den verschiedensten Stoffen durchgeführten Verteilungsstudien des Schrifttums bleiben noch viele Fragen offen, die eine Fortführung unserer Versuche, insbesondere unter Beachtung der Dynamik von Verteilungsvorgängen befürworten. So wären Untersuchungen mit Stoffen von stark abweichenden physikalisch-chemischen Eigenschaften, wie Basen, elektrisch-neutralen sowie hochmolekularen Verbindungen wünschenswert. Die gleichzeitige Betrachtung der Verteilungsverhältnisse in vivo und der Verteilung auf Wasser- und kolloide Phase in vitro würde im Zusammenhang mit Überlegungen hinsichtlich Permeabilität und Ausscheidungsmechanismus weiterführen. Auch die Verteilung verschiedener Stoffe auf den leicht zugänglichen Subarachnoidalraum oder in Transsudaten (Pericardflüssigkeit) bzw. in durch Entzündungsreize hervorgerufene Blasen könnte Aufschlüsse bringen. Durch gleichzeitige Verabreichung zweier Stoffe müßten Verdrängungserscheinungen nachweisbar werden. Es wäre auch zu verfolgen, ob extrarenale Wasserverschiebungen (durch Diuretika) oder eine Veränderung im Polymerisationsgrad der Gewebshyaluronsäure (Spreading Effekte), ferner Nebennierenrindenhormone Verteilungsvorgänge beeinflussen. Für alle solche Untersuchungen (mit „nicht reaktiven“ Stoffen) ist der nierenlose Hund sehr geeignet.

Zusammenfassung.

Es wurde am nierenlosen Hund der Blut-Konzentrationsverlauf nach einmaliger intravenöser Injektion von Sulfanilsäure, Sulfanilamid, Sulfanilacetamid, Sulfapyridin, Sulfa-4-methylpyridin, Sulfaäthylthiodiazol und Sulfathiazol untersucht. Die Verteilung erfolgt in den ersten 20 min rascher als in den folgenden 30 min. Nach 50 min besteht praktisch Verteilungsgleichgewicht. Man kann annehmen, daß nach Beendigung der Durchmischung der Körpersäfte im Blut und Lymphkreislauf das Eindringen in die Zelle über kurze Diffusionswege und nahezu zeitlose Adsorptionsvorgänge in den ersten 20 min stattfindet, während im späteren Verlauf der Verteilung nur Diffusion über weite Strecken in schwer zugängliche Räume oder schlecht durchblutete Gewebe erfolgt. Die untersuchten Verbindungen geben nach dem Verteilungsvolumen geordnet folgende ansteigende Reihe: Sulfanilsäure, Sulfanilacetamid, Sulfa-4-methylpyrimidin, Sulfathiazol, Sulfaäthylthiodiazol, Sulfapyridin, Sulfanilamid. Sulfanilsäure und Acetylsulfanilamid verteilen sich vorwiegend extracellulär, Sulfanilamid und heterocyclisch substituierte Sulfonamide in verschiedenem Maße auch intracellulär. Die Verteilungsvolumina sind in dem untersuchten Konzentrationsbereich von der Dosis unabhängig. — Der nierenlose Hund ist ein geeignetes Modell für die Erkennung der Verteilungsvorgänge.

Literatur.

[1] Theorell, T.: Arch. internat. Pharmacodynamie **57**, 205 (1937). — [2] Druckrey, H., u. K. Küpfmüller: „Dosis und Wirkung", 1. Erg. Bd. „Die Pharmazie" 8. Beiheft (1949). — [3] Dost, F. H.: Klin. Wschr. **26**, 545 (1948). — Kinderärztl. Prax. **1950**, 113. — [4] Ther, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 376 (1948). — [5] Soehring, K., u. A. Kröncke: Ärztl. Forschg. **IV**, I/590 (1950). — [6] Houck, C. R.: Amer. J. Physiol. **165**/1, 102 (1951). — [7] Clerc, E.: Diss. Berlin 1950. — [8] Bratton, A. C., u. E. K. Marshall: J. of Biol. Chem. **128**, 537 (1939). — [9] Langecker, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 367 (1950). — [10] Fisher, S. H., L. Troast, A. Waterhouse and J. A. Shannon: J. of Pharmacol. **79**, 373 (1943). — [11] Witzgall, H.: Habil.-Schrift, Berlin 1951. — [12] Edelmann, J. S., J. M. Olney, A. H. James, L. Brooks u. F. D. Moore: Science **115**/447 (1950). — [13] Elkinton, J. R.: J. Clin. Inv. **26**, 1088 (1947). — [14] Levine, R., M. Goldstein, S. Klein u. B. Muddlestun: J. of Biol. Chem. **179**, 985 (1949). — [15] Bloodworth, J. M. B.: Endocrinology **50**, 174 (1952). — [16] Gregersen, M. I., and J. D. Stewart: Amer. J. Physiol. **125**, 142 (1939). — [17] Eichler, O., u. I. Appel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 472 (1951). — [18] Painter, E. E.: Amer. J. Physiol. **123**, 159P (1938). — [19] Drechsler, W.: Diss. Berlin 1952.

Prof. Dr. Hedwig Langecker,
Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin N 65, Müllerstr. 170/172.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 286—289 (1953).

Aus der Prosektur des A. ö. Krankenhauses St. Pölten
(Vorstand: Doz. Dr. F. Köberle).

Über die mutmaßliche Bedeutung des Melanins in der Substantia nigra.

Von
Reinhard Friede.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. Oktober 1952.)

Die Bedeutung des Melanins in den Ganglienzellen verschiedener zentraler Regionen ist noch völlig unklar. Nachdem einerseits eine enge chemische Verwandtschaft zwischen Adrenalin und Melanin besteht, andererseits Raab in verschiedenen zentralen Regionen einen unterschiedlichen Gehalt an „Encephalin", das dem Adrenalin sehr nahesteht, nachweisen konnte, haben wir uns die Frage vorgelegt, ob zwischen diesen beiden Befunden vielleicht ein ursächlicher Zusammenhang bestehen könnte.

Adrenalin geht in vitro durch Oxydation in Melanin über. Wie die von Lichtwitz bei Katzen durch Adrenalininjektion erzeugten Pigmentierungen zeigen, ist dies auch in vivo möglich. Dabei können auch die sympathischen Fasern selbst eine Rolle spielen, wie die durch Sympathektomie erzeugbare Heterochromie des entsprechenden Auges, die auch mit einer allgemeinen Pigmenthemmung einhergehen kann, erweist (Passow). Daß hierbei auch das Adrenalin selbst beteiligt sein dürfte, zeigen Bennet und Hausberger, indem sie durch Eintropfen von Adrenalin in den Conjunktivalsack das Auftreten einer Sympathicusheterochromie nicht nur verhindern können, sondern sogar eine stärkere Pigmentierung des Auges erzielen. Aus Extrakten von Melanomen lassen sich körpereigene Fermente gewinnen, die Adrenalin zu Melanin oxydieren (Neuberg u. a.). Auch pharmakologisch ähnelt das Melanin dem Adrenalin durch seine vasokonstriktorische Wirkung (Brahn).

Aus dieser Problemstellung ergab sich die Frage, ob das zentrale Melanin sich in seiner Entstehung irgendwie von vorangehenden adrenalinähnlichen Substanzen herleiten lasse. Zur Untersuchung dieser Frage hat sich folgendes Verfahren bewährt, nachdem eine Reihe von vorangehenden Versuchen, entsprechende Fermente aus der Substantia nigra zu extrahieren, mißlungen war.

Da mit einer postmortalen Zerstörung allfälliger Fermente zu rechnen war, wurde menschliches Hirnmaterial lebenswarm (bei unseren Versuchen nicht später als 4 Std post mortem) entnommen. Aus dem Hirnschenkel wurden zwei, Subst. nigra enthaltende Scheiben geschnitten und mit den korrespondierenden Schnittflächen nach oben in eine Petrischale gebracht, die auf dem Boden etwas physiologische NaCl-Lösung enthielt, aber nicht soviel, daß diese die Schnittfläche erreicht. Die auf diese Weise eine feuchte Kammer bildende Petrischale wird im

Brutraum bei 36° aufbewahrt, wobei etwa im Abstand von 1 Std die Subst. nigra der einen Schnittfläche mit Adrenalin in Substanz (Adrenalintartrat Sanabo) bestäubt wird, während die andere unbehandelt bleibt. Die handelsüblichen Adrenalinlösungen sind unbrauchbar. Nach einiger Zeit macht sich eine rauchgraue Färbung des bestäubten Bezirkes bemerkbar. Die Scheiben werden 4 Std und länger auf diese Weise behandelt, dann erfolgt Fixierung in Formalin oder Alkohol. Die Scheiben werden schließlich in Paraffin in der Weise eingebettet, daß durch Zusammenfügen der ursprüngliche Zusammenhang wieder hergestellt ist.

Betrachtet man den Querschnitt der S. nigra beider Scheiben im Paraffinblock, so findet sich die Subst. nigra der adrenalinbehandelten Seite wesentlich dunkler (schwärzlichbraun), als die der unbehandelten Seite (mittelbraun). Dieser Unterschied ist im angeschnittenen Block

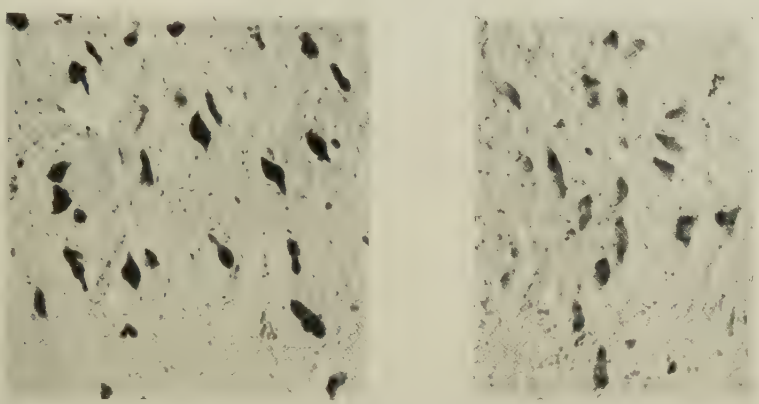


Abb. 1. Deutlicher Unterschied im Pigmentgehalt der Zellen der Subst. nigra mit und ohne Behandlung mit Adrenalin. Links der behandelte Teil; beide Teile aus demselben Schnitt.

besonders markant. Im Schnitt selbst ist ein deutlicher Unterschied im Pigmentgehalt der Zellen beider Scheiben erkennbar (Abb. 1). Während sich das Melanin in der unbehandelten Seite als Körnchen in der Zellstruktur erkennen läßt, erscheinen die behandelten Zellen (an der Schnittkante vielleicht noch deutlicher, als in der Tiefe) oft nur als melaninbeladene kompakte Strukturen. Anscheinend auf Grund der Massierung erscheint das Pigment auch etwas dunkler. Außerhalb der intensiv beladenen Zellen ist, was wir besonders betonen möchten, kein Melanin sichtbar. Bei den Ganglienzellen nicht pigmentierter Kerne fällt die Reaktion negativ aus. Damit ist gezeigt, daß die Zellen der Subst. nigra eine elektive Fähigkeit besitzen (durch einen anscheinend fermentativen Prozeß) Adrenalin in Melanin zu verwandeln.

Dies ist besonders bemerkenswert gegenüber der Tatsache, daß von der Dopa-Oxydase weder Tyrosin, noch Adrenalin angegriffen werden. Hier scheint eine grundsätzliche Differenzierung vorzuliegen. Hinsichtlich derselben wäre das Verhalten des Melanin in den entsprechenden Kerngebieten bei totalem Albinismus wichtig, worüber keine Angaben zu finden sind.

Ist nun diese Fähigkeit der Ganglienzellen, aus Adrenalin Melanin bilden zu können, lediglich Nebenerscheinung eines ganz anderen Vorganges oder weist sie wirklich auf Stoffwechselvorgänge hin, in denen Tyrosinabkömmlinge eine wesentliche Rolle spielen? Einen Fingerzeig zur Lösung dieser Fragestellung vermag die Pathologie zu geben. Denn beim postencephalitischen Parkinsonismus, aber auch bei der Paralysis agitans (Klaue) findet sich einerseits als regelmäßigster Befund eine Depigmentierung der Subst. nigra, andererseits spricht aber diese Erkrankung auf Atropin usw. an, bzw. auf Substanzen, die eine verstärkte Wirkung adrenergischer Komponenten verursachen.

Die Depigmentierung der Subst. nigra beruht meist auf einem völligen Schwund der pigmentführenden nervösen Elemente (vgl. Foix, MacKinley, Marinesku Baloi, MacAlpine, Kohnstamm und viele andere), doch finden sich auch Fälle, wo eine Depigmentierung bei erhaltenen Ganglienzellen eintritt; so beschreibt MacAlpine eine geringgradige Depigmentierung ohne Reduktion der Zellzahl. Nach Stern findet man in fast jedem Arteriosklerotiker — und Greisenhirn manchmal pigmenthaltige Gliazellen um eine pigmentlose Ganglienzelle, „von der wir annehmen dürfen, daß sie das Pigment geliefert hat". Diese Fälle von Depigmentierung bei erhaltener nervöser Substanz legen den Verdacht auf eine Stoffwechselstörung nahe.

Es bleibt demnach folgendes zu fixieren:

a) Die pigmentführenden Ganglienzellen können aus Adrenalin Melanin bilden.

b) Bei postencephalitischem Parkinsonismus besteht eine Depigmentierung bzw. Zerstörung dieser Zellen.

c) Eben dieser Parkinsonismus verhält sich therapeutisch so, als läge eine Schädigung adrenergischer Systeme vor, indem er durch sympathicomimetische, parasympathicolytische Mittel günstig beeinflußt wird*.

Die Zusammenstellung dieser Tatsachen vermag vielleicht ein Licht auf die Bedeutung des Melanins in den Ganglienzellen zu werfen. Nachdem das Melanin in den Zentren nur bei Menschen bzw. Primaten auftritt und auch hier nur nach dem 3. (Subst. nigra) bzw. 2. Lebensjahr (Locus coeruleus), ist eine Funktionsumstellung dieser Gebiete im Rahmen der funktionellen Umstellung des extrapyramidalen Systems mit dem Überwiegen der Pyramidenbahnen naheliegend (Adler).

Die Auslegung von Adler allerdings, daß die Pigmentbildung Ausdruck des Alterns bzw. Zerfalls eines sich auflösenden Systems sei, dürfte kaum Anerkennung finden. Denn sie bezieht die (gerade hier von Calligaris u. a. durchgeführte) Unterscheidung von Melanin und Lipofuscin überhaupt nicht ein, setzt voraus, daß die Subst. nigra ein „zerfallendes" System darstelle und steht mit den Befunden, die man beim tatsächlichen pathologischen Zerfall nervöser Elemente erhebt, im Widerspruch.

* Ähnliche Gedankengänge werden in einer während der Korrektur erschienenen Anmerkung über die Pathogenese tetanischer Krämpfe dargelegt (Klin. Wschr. **30**, 1041 [1952]).

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß die Ganglienzellen der Subst. nigra in der Lage sind, aus Adrenalin Melanin zu bilden. Mit diesem Befund wird der Pigmentschwund bei Parkinsonismus und das Ansprechen desselben auf sympathicomimetische — parasympathicolytische Mittel verglichen, woraus sich die Vermutung ergibt, daß das Melanin einen Stoffwechselvorgang anzeigt, in dem Tyrosinabkömmlinge mit einer quasi — adrenergischen Wirkung eine Rolle spielen.

Literatur.

Adler, A.: Pötzl Festschrift. Innsbruck 1949. — Bacq, Z. M., u. D. Heirmann: J. of Physiol. **92**, 28 P (1938). — Bennet, G. A., u. F. X. Hausberger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 40 (1938). — Brahn, B.: Virchows Arch. **227**, 145 (1926). — Calligaris, C.: Mschr. Psychiatr. **24**, 339 (1908). — Foix, C.: Rev. Neur. **28**, 593 (1921). — Klaue, R.: Arch. Psychiatr. **111**, 25 (1940). — Kohnstamm, P.: J. f. Neur. **46**, 22 (1934). — Lichtwitz, L.: D. Arch. klin. Med. **94**, 567 (1908). — MacKinley, J. Cl.: Arch. of Neur. **9**, 47 (1923). — Marinesku Baloi, P.: Arch. Psychiatr. **76**, 704 (1926). — Neuberg, C.: Virchows Arch. **192**, 514 (1908). — Passow, A.: Klin. Mbl. Augenheilkd. **116**, 561 (1950). — Raab, W.: Pötzl Festschrift. Innsbruck 1949. — Stern, K.: Z. Neur. **148**, 753 (1933).

Dr. Reinhard Friede, St. Pölten, Ofnergasse 7 (Österreich).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 290—294 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg
(Direktor: Professor Dr. S. Janssen).

Die Wirkung verschiedener Theophyllin-Präparate bei der Bekämpfung des experimentellen Cheyne-Stokes.

Von
L. Schmidt.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. November 1952.)

Cheyne-Stokessche Atmung tritt als Begleitsymptom zahlreicher Krankheiten auf: bei Hirndrucksteigerung (Tumor, Abscess, Meningitis, eklamptische Form der Urämie); akutem O_2-Mangel, auf Grund der eintretenden Alkalose; bei schwerer Acidose; in der Form des Asthma cardiale bei Herzinsuffizienten und bei Störungen der Gehirndurchblutung (Cerebralsklerose).

Der Cheyne-Stokesschen Atmung liegt immer eine verminderte Erregbarkeit des Atemzentrums zugrunde: auch beim gesunden Menschen tritt häufig im Schlaf eine angedeutete Cheyne-Stokes-Atmung auf. Bei der Behandlung wird der Arzt naturgemäß bestrebt sein, die Ursache dieses Symptoms zu beseitigen. Jedoch ergibt sich häufig die Notwendigkeit, zunächst das Symptom, also das Auftreten der Cheyne-Stokesschen Gruppenatmung zu bekämpfen. Da derartige Atemstörungen vorwiegend nachts auftreten, hindern sie den Patienten am Schlafen, wodurch sich der Zustand des Kranken weiter verschlimmert.

Es ist eine seit langem bekannte Tatsache, daß Theophyllinpräparate diese Atemstörungen, besonders diejenigen Herzinsuffizienter und Kreislaufgestörter, sehr rasch beseitigen. Uns interessierte die Frage, ob die wesentlichsten im Handel befindlichen Theophyllin-Präparate untereinander bei der Behandlung der Cheyne-Stokesschen Gruppenatmung gleichwertig sind, oder ob dem stets vorhandenen Lösungsvermittler eine Bedeutung zukommt.

Experimentell ergab sich die Schwierigkeit, derartige Atemstörungen zu erzeugen. Das Experiment wird hier niemals ganz ersetzen können, was der Arzt am Krankenbett sieht. Nun hat Filehne[3, 4] bereits 1879 darauf hingewiesen, daß die Atemstörungen, die durch Morphin beim Kaninchen erzeugt werden können, der Cheyne-Stokes-Atmung Herzkranker außerordentlich ähnlich sind. Schoen[7, 8] beschäftigte sich (1928) ebenfalls mit diesem Problem und schloß sich der Ansicht Filehnes an.

Wir selber (Enders u. Schmidt[1]) untersuchten in Anlehnung an Versuche von Straub[9] die genauen Bedingungen, die zum Erzeugen der Cheyne-Stokesschen Gruppenatmung beim Kaninchen nötig sind. Wenn auch die durch Morphin beim Kaninchen erzeugte periodische Atmung nicht unbedingt mit den Atemstörungen bei Herzkrankheiten

gleichzusetzen ist, so sind wir doch der Meinung, daß eine vergleichende Untersuchung verschiedener Theophyllin-Präparate bei der Bekämpfung des Kaninchen-Cheyne-Stokes, Schlüsse auf die Theophyllin-Therapie der menschlichen Atemstörungen zuläßt.

Methodik.

Als Versuchstiere wurden Kaninchen im Gewicht von 1,5 bis 3 kg verwendet. Die Atmung wurde mit einem auf den Thorax aufgesetzten Direktschreiber registriert. Atemstörungen erzeugten wir nach der von Enders u. Schmidt[1] beschriebenen Methode (Kaninchen in Urethannarkose [1,0 kg s.c.], plus 20 mg Morphin/kg i.v.). Injektion erfolgte in die Ohrvene.

Von den im Handel befindlichen Theophyllin-Präparaten untersuchten wir vergleichend:

1. Euphyllin (Lösungsvermittler: Äthylendiamin),
2. Deriphyllin (Lösungsvermittler: Diäthanolamin),
3. Unophyllin (Lösungsvermittler: Monoäthanolamin).

Da die handelsüblichen Theophyllin-Präparate nicht die gleiche Konzentration aufweisen, wurden sie verdünnt, und zwar so, daß die von uns verwendeten Lösungen immer 2% Theophyllin enthielten.

Als Vergleichssubstanzen wurden Theophyllin natr. acet. und Coffein natr. benz. verwendet.

Weiterhin untersuchten wir die atmungsanregende Wirkung von Nyxanthin-Zäpfchen (Kombination von 0,2 Theophyllin-monoäthanolamin plus 100 mg Papaverin. basic. pro Zäpfchen). Wir haben schon früher die atmungsanregende Wirkung des Papaverins beschrieben (Enders u. Schmidt[2, 5, 6]) und erhofften von dieser Papaverin-Theophyllin-Kombination besonders gute Wirkung bei der Bekämpfung der Gruppenatmung. Da die Dosierung der Zäpfchen naturgemäß Schwierigkeiten bereitet, gaben wir unseren Versuchstieren unabhängig vom Gewicht, jeweils den 10. Teil eines Nyxanthin-Zäpfchens.

Es wurden insgesamt 60 Versuche durchgeführt, und zwar wurde jede der genannten Substanzen an 10 Kaninchen geprüft.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse unserer Versuche seien in der nachstehenden Tabelle mitgeteilt:

Tabelle 1.

Präparat	Anzahl der Versuche	Atmungswirkung: Zahl der Versuche bei denen Atmungsanregung eintrat	Atmungswirkung: Zahl der Versuche ohne Atmungsanregung
Euphyllin . . .	10	6	4
Deriphyllin . .	10	6	4
Unophyllin . . .	10	6	4
Nyxanthin . . .	10	6	4
Theophyllin . .	10	6	4
Coffein	10	10	0

Die Versuche mit Euphyllin, Deriphyllin, Unophyllin und Theophyllin verliefen mit großer Übereinstimmung. Bei sämtlichen Versuchen wirkten die genannten Präparate in 6 von 10 Fällen gut atmungsanregend. Die Atmungsanregung war jedoch in den meisten Fällen nur kurz dauernd. Erst verhältnismäßig hohe Dosen (60 bis 100 mg/kg) bewirkten eine lang anhaltende Anregung und Regularisierung der Atmung.

Abb. 1 zeigt den Verlauf eines derartigen Versuches, bei dem Euphyllin verabreicht wurde, welches in diesem Falle eine gute Wirkung zeigte.

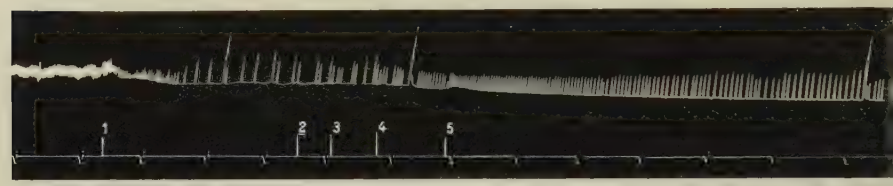


Abb. 1. Versuchstier: Kaninchen von 2,5 kg, Urethannarkose (1,0/kg s. c.). Registriert: Atmung mit Direktschreiber. Zeitschreibung: Minuten. *1* 20 mg Morphin/kg i. v. Es treten schwere Atemstörungen auf, die nach 2½ min zu Gruppenatmung werden. *2*, *3*, *4*, *5* je 1 cm³ 2%iges Euphyllin i. v. Es kommt zu einer deutlichen Atmungsanregung, die aber nur 2½ min anhält. Anschließend wieder Verlangsamung der Atemzüge und nach 9 min treten wieder die ersten Cheyne-Stokes-artigen Atemzüge auf.

Im Gegensatz zu diesen Stoffen wirkte Coffein in allen Fällen stark atmungsanregend. Jedoch war auch hier die Atmungsanregung immer nur von kurzer Dauer, wenn die Dosierungen niedrig gewählt wurden (20 bis 40 mg/kg). Ebenso wie bei den oben genannten Präparaten wirkte auch Coffein erst dann für längere Zeit, wenn größere Mengen (40 bis 80 mg/kg) verabreicht wurden.

Abb. 2. Versuchstier: Kaninchen, 2,0 kg, Urethannarkose (1,0/kg s. c.). Registriert: Atmung mit Direktschreiber. Zeitschreibung: Minuten. *1* 20 mg Morphin/kg i. v. Nach dem Auftreten deutlicher Atemstörungen, bei *2* rectale Applikation des 10. Teiles eines Nyxanthin-Zäpfchens (20 mg Theophyllin-monoaethanolamin plus 10 mg Papaverin. basic.). Die Wirkung setzt nach 3½ min ein. Zwar kommt es zu keiner restlosen Wiederherstellung der Atmung, jedoch wird sie anhaltend regularisiert.

Nyxanthin wirkte genau wie die übrigen Theophyllin-Präparate nur in 6 von 10 Fällen atmungsanregend. Jedoch weisen diese Versuche einen wesentlichen Unterschied gegenüber den Experimenten mit Theophyllin auf: In den Fällen, in denen es zu einer deutlichen Atmungsanregung kam, war diese anhaltend, obwohl sämtliche Versuchstiere

nur den 10. Teil eines Nyxanthin-Zäpfchens (20 mg Theophyllin-monoäthanolamin plus 10 mg Papaverin. basic.) ohne Rücksicht auf ihr Gewicht erhielten.

Abb. 2 zeigt den Verlauf eines solchen Versuches.

Diskussion.

Unsere Versuche zeigten, daß sich die untersuchten Theophyllin-Präparate in bezug auf die Sicherheit ihrer Wirkung gleich sind: sie wirkten in 6 von 10 Fällen atmungsanregend. Damit ist bewiesen, daß die Lösungsvermittler der untersuchten Substanzen (Äthylendiamin, Diäthanolamin und Monoäthanolamin) keinen Einfluß auf die gestörte Atmung haben.

Daß Coffein in sämtlichen Fällen atmungsanregend wirkte, hat nicht überrascht und ist hinlänglich bekannt.

Die von uns untersuchte Theophyllin-Papaverin-Kombination wirkte wie die übrigen Theophylline nur in 6 von 10 Fällen. Jedoch zeigte sich, daß die Dauer der Wirkung wesentlich länger war, als die der in Form von Lösungen applizierten Präparate. Wir führen diese länger anhaltende Wirkung

1. auf das Papaverin,

2. auf die andere Art der Applikation (rektal) zurück. Es ist anzunehmen, daß bei rektaler Verabreichung der übrigen Theophylline ebenfalls eine länger dauernde Wirkung zu erzielen ist. Der Vorzug von Nyxanthin liegt unseres Erachtens darin, daß das Paraverin einerseits die Wirkung des Theophyllins (Erweiterung der Coronar- und Gehirngefäße, Atmungsanregung) unterstützt, andererseits aber durch seine sedative Wirkung die zentrale Erregung des Theophyllins kompensiert. Es ist bekannt, daß bei Verabreichung von Theophyllin-Präparaten bei Cheyne-Stokesscher Atmung die Atemstörungen aufgehoben werden, daß die Patienten aber wegen der erregenden Wirkung des Theophyllins trotzdem keinen Schlaf finden.

Zusammenfassung.

Die atmungsanregende Wirkung von Coffein, Euphyllin, Deriphyllin, Unophyllin, Theophyllin und Nyxanthin wurde an Hand des Morphin-Cheyne-Stokes am Kaninchen untersucht:

1. Coffein wirkte i.v. verabreicht immer atmungsanregend (10 Versuche).

2. Euphyllin, Deriphyllin, Unophyllin und Theophyllin wirkten i.v. verabreicht nur in 6 von 10 Fällen. Die Wirkung war rasch vorübergehend.

3. Nyxanthin (Theophyllin-Papaverin-Kombination) wirkte ebenfalls nur in 6 von 10 Fällen, dann aber länger dauernd. Die Lösungsvermittler der untersuchten Theophyllin-Präparate haben keinen Einfluß auf die Atmungsanregung. Die länger dauernde Wirkung des Nyxanthins wird auf das darin enthaltene Papaverin und auf die rektale Applikation zurückgeführt.

Literatur.

[1] Enders u. Schmidt: Arzneimittelforschg **2**, 155 (1952). — [2] Enders u. Schmidt: Arzneimittelforschg **2**, 221 (1952). — [3] Filehne: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **10**, 442 (1879). — [4] Filehne: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **11**, 45 (1879). — [5] Schmidt: Arzneimittelforschg **1**, 117 (1951). — [6] Schmidt: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, Heft 1/2, 178 (1952). — [7] Schoen: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **135**, 155 (1928). — [8] Schoen: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **138**, 339 (1928). — [9] Straub: zit. nach Wolff: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **74**, 298 (1913).

Dr. L. Schmidt, Pharmakol. Inst. d. Univ. Freiburg/Br., Katharinenstr. 29.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 295—301 (1953).

Aus dem Institut für normale und pathologische Physiologie der Universität Köln.

Zur Beeinflussung des hypoglykämischen Krampfes und Todes durch dihydrierte Mutterkornalkaloide (Hydergin).

Von

H. Osswald und W. Rössel.

Mit 9 Textabbildungen.

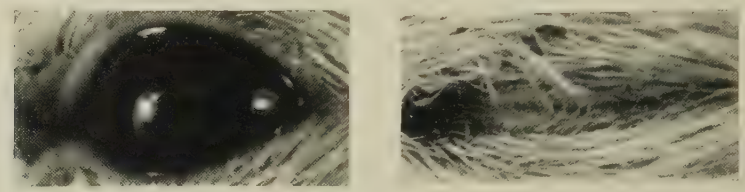
(Eingegangen am 7. November 1952.)

In einer früheren Arbeit (1951) konnten wir zeigen, daß es bei Kaninchen, Ratten und Mäusen unter dem Einfluß von Insulin zu erheblichen Einschränkungen in der Hirndurchblutung kommen kann, die in der Großhirnrinde beginnen und bei längerer Dauer der Hypoglykämie stufenweise auf Thalamus, Kleinhirn und Hypothalamus übergreifen. Kürzlich (1952) berichteten wir über die krampfverzögernde Wirkung von dihydrierten Mutterkornalkaloiden (Hydergin) bei Mäusen nach Verabfolgung von Insulin, Coramin, Cardiazol, Cocain und Strychnin. Da nach Angaben einer Reihe von Autoren (Bluntschli u. Götz, Hafkenschiel und Mitarbeitern, Rothlin u. Taeschler, Schneider u. Wiemers, Jötten) dihydrierte Mutterkornalkaloide die Hirndurchblutung verbessern sollen, interessierte uns, ob dieser gefäßerweiternde Effekt auch im Zuckermangel zu beobachten ist und ihm damit möglicherweise eine Bedeutung für die antokonvulsivische Wirkung der dihydrierten Mutterkornalkaloide zukommt. Dabei fand sich überraschenderweise mit der von uns auch früher (1951) schon benutzten Methode der postmortalen Capillardarstellung nach Slonimski u. Cunge, die auf einer Benzidinfärbung der Erythrocyten beruht, kein Anhaltspunkt für eine Verbesserung oder gar Aufhebung der durch Insulin hervorgerufenen Durchblutungseinschränkungen im ZNS. Eher war das Gegenteil der Fall.

Ergebnisse.

Ein Kriterium für das Ausmaß der Hyderginisierung bei Ratten und Mäusen ist die Weite der Lidspalte, die sich bei ausreichender Dosierung vollständig schließt, wie ein Vergleich zwischen Abb. 1a und 1b zeigt. Dabei bleiben die Tiere vollkommen wach. Sie weisen keine Anzeichen einer Narkose auf. Nach Verabfolgung von Insulin krampfen und sterben sie mit geschlossenen Augen im Gegensatz zu den nicht mit Hydergin behandelten Kontrollen, bei denen die Augen während allen Stadien der Hypoglykämie offen sind.

Genau wie bei Mäusen verzögern dihydrierte Mutterkornalkaloide auch bei 100—150 g schweren Ratten, die 20—40 E Insulin erhielten, den Krampfbeginn und den Eintritt des Todes wie aus Tab. 1 hervorgeht, in der die Daten einer entsprechenden Versuchsreihe im Vergleich zu einer Kontrollserie zusammengestellt sind. Die Unterschiede sind statistisch gesichert. Die Verabfolgung von 0,5 mg Hydergin erfolgte 15 min vor der Insulininjektion. Die Temperatur in der Versuchskammer lag bei 32°.



a b

Abb. 1a und b. Der Einfluß von Hydergin auf das Rattenauge. *a* Normales Tier, *b* Das gleiche Tier 30 min nach Injektion von 1 mg Hydergin s. c.

Dieser Schutz von Hydergin gegenüber der Insulinwirkung besteht, wenn den Tieren das Pharmakon sowohl vor (15—30 min) als auch nach der Insulinapplikation verabfolgt wird. Erfolgt die Injektion erst nach Beginn des Krampfes, dann sistiert dieser innerhalb von wenigen Augenblicken. Die Tiere verfallen aber fast immer anschließend in tiefe Bewußtlosigkeit, was nicht der Fall ist, wenn Hydergin zu irgendeinem Zeitpunkt vor Krampfbeginn verabfolgt wird und bleiben in diesem Zustand für den weiteren Versuchsverlauf, wobei aber wiederum die Kontrollen signifikant überlebt werden.

Tabelle 1.

	Zahl der Tiere	Zahl der krampfenden Tiere	Zeit bis Krampfbeginn in min	p*	Zahl d. gestorb. Tiere	Zeit bis zum Tode in min	p*
20 E Insulin	8	8	108		8	123	
20 E Insulin + 0,5 mg Hydergin	8	8	332	<0,001	8	394	<0,01

* Die p-Werte wurden nach dem t-Test berechnet.

Bevor wir auf die Frage der Beeinflussung der Hirnduchblutung von insulinierten Ratten durch Hydergin näher eingehen, muß zunächst festgestellt werden, daß grundsätzlich unter dem Einfluß von bestimmten Pharmaka wechselnde Capillarbilder in der Großhirnrinde von normalen Tieren beobachtet werden können. Abb. 2 zeigt die Vaskularisierung eines normalen, durch Leuchtgas getöteten Tieres, Abb. 3 die eines mit 0,1 mg s.c. Adrenalin behandelten, Abb. 4 die eines mit 1,5 mg Histamin behandelten Tieres. Die beiden letzteren wurden 15 min nach der Injektion

durch Leuchtgas getötet. Während sich beim unbehandelten Tier zwischen gut gefüllten pialen und intercerebralen Gefäßen ein grobmaschiges, prallgefülltes, zusammenhängendes Kapillarnetz ausbreitet, nimmt nach Adrenalin die Dichte der Gefäße zu, das Lumen aber ab. Auffallend feinmaschig ist die Gefäßzeichnung nach Verabfolgung von Histamin, wobei aber die Gefäßfüllung gering ist.

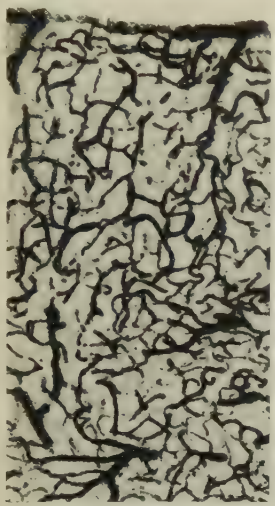


Abb. 2.

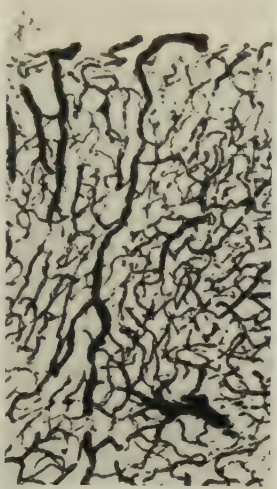


Abb. 3.

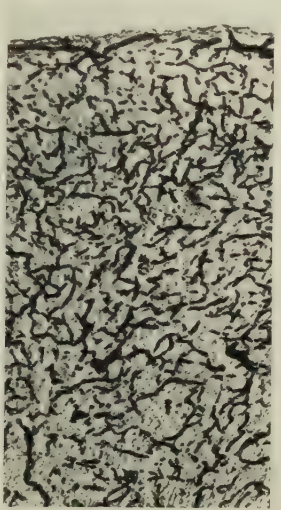


Abb. 4.

Abb. 2. Gefäßbild der Großhirnrinde einer normalen Ratte. Tod durch Leuchtgasvergiftung.

Abb. 3. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach Injektion von 50 γ Adrenalin s. c. Leuchtgastod 10 min nach Injektion.

Abb. 4. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach Injektion von 1,5 mg Histamin s. c. Tod des Tieres 15 min nach Injektion.

Die Gefäßverengerung beim Adrenalintier wird man als Folge des direkten konstriktischen Einflusses dieses Pharmakons auf die Gefäßwand deuten müssen. Die Ursache der stärkeren Gefäßzeichnung dürfte die Eröffnung von Capillaren durch den erhöhten Blutdruck sein. Auch beim Histamin ist anzunehmen, daß das Capillarbild durch das Zusammenspiel von Blutdrucksenkung und direkter Gefäßwirkung bestimmt wird. Erstere bewirkt die spärliche Füllung der Gefäße, letztere eröffnet sämtliche überhaupt vorhandenen Kapillaren. Die Höhe des Blutdrucks wird dann ausschlaggebend sein, in welchem Umfang diese noch mit Blut gefüllt werden können. Dadurch wird es auch verständlich, daß bei stärkerer Hypotonie nur noch ein Teil der Hirngefäße durchblutet werden und die Bilder dann den Anschein erwecken, als ob die Capillarisierung sich verschlechtert hätte.

Mit den von uns benutzten großen Hydergindosen gelang es nun schon beim Normaltier nicht, die Hirndurchblutung zu verbessern. Eher

wurde das Gegenteil hervorgerufen, wie Abb. 5 im Vergleich mit Abb. 1 zeigt. Dieser Befund steht u. E. nicht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Jötten, der sehr viel geringere Dosen anwandte, bei deren Verabfolgung auch wir zumindest keine Abnahme, sondern eher eine Zunahme in der normalen Vaskularisierung beobachteten. Entscheidend ist aber, daß diese *kleinen Dosen keinen Einfluß* auf das Krampfgeschehen und den Tod der Tiere ausüben. In Tab. 2 sind aus der Reihe der in dieser Richtung durchgeführten Versuchsreihen drei entsprechende Serien zu

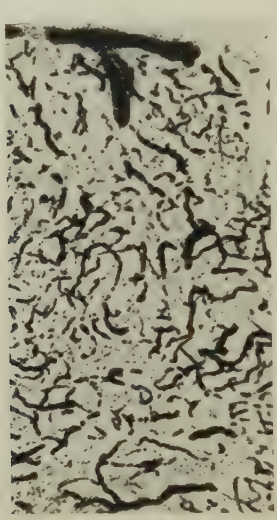


Abb. 5.

Abb. 6.

Abb. 5. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach Injektion von 1 mg Hydergin s. c. Tod des Tieres 15 min nach Injektion.

Abb. 6. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach Injektion von 20 E Insulin s. c. Leuchtgastod 70 min nach Injektion. Blutzucker 19 mg/%.

je 8 Tieren zusammengestellt. Die 110 g schweren Tiere erhielten 20 E Insulin. Es wurde einmal mit Beginn der Insulininjektion und anschließend alle 30 min 0,02 mg Hydergin verabfolgt, zum anderen gleichzeitig

Tabelle 2.

	Zahl der Tiere	Zahl der krampfenden Tiere	Zeit bis Krampfbeginn in min	p*	Zahl d. gestorb. Tiere	Zeit bis zum Tode in min	p*
20 E Insulin	8	8	81		8	117	
20 E Insulin + 0,02 mg Hydergin alle 30 min	8	8	78		8	135	
20 E Insulin + 1,5 mg Hydergin	8	7	660	< 0,001	7	780	< 0,001

* Die p-Werte wurden nach dem t-Test berechnet.

mit der Insulinapplikation eine einmalige Dosis von 1,5 mg. Die Temperatur im Versuchsraum lag bei 25°.

Die zur Verzögerung von Krampf und Tod notwendigen großen Hyderginmengen beeinflussen nun eine einmal eingetretene hypoglykämische Durchblutungsstörung in der Großhirnrinde nicht, wie ein Vergleich zwischen Abb. 6 und 7 zeigt. Eher hat man den Eindruck einer Verschlechterung der Vascularisierung. In den den Abbildungen zugrunde liegenden Versuchen erhielten beide Tiere 20 E Insulin s.c. Das eine

Abb. 7.

Abb. 8.

Abb. 9.

Abb. 7. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach Injektion von 20 E Insulin s. c. Leuchtgastod 70 min nach Injektion. Das Tier erhielt 15 min vor der Insulinapplikation 1 mg Hydergin s.c. Blutzucker 18 mg%.

Abb. 8. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach 20 E Insulin s. c. 110 min p. i. Krampfbeginn. Sofortige Injektion von 1 mg Hydergin. Schlagartiges Aufhören des Krampfes. Das Tier wird aber bewußtlos. Leuchtgastod 5 min nach Beginn der Bewußtlosigkeit. Blutzucker 26 mg%.

Abb. 9. Capillarisierung der Großhirnrinde einer Ratte nach 20 E Insulin s. c. 95 min p. i. Krampfbeginn. Sofortige Injektion von 10 mg Pendiomid. Keine Beeinflussung des Krampfes. Leuchtgastod 5 min nach Krampfbeginn. Blutzucker 23 mg%.

(Abb. 7) bekam zusätzlich 15 min vor der Injektion 1 mg Hydergin s.c. Beide Tiere krampften bis zu 70 min nach der Applikation nicht und wurden zu diesem Zeitpunkt durch Leuchtgas getötet. Beim nicht mit Hydergin behandelten Insulintier finden sich in allen Schichten der Rinde einige wenige spärlich gefüllte Capillaren. Im Hirn des mit Hydergin behandelten Insulintieres sind dagegen die Gefäße in den obersten Abschnitten der Rinde fast vollständig verschwunden. Ähnliche Unterschiede fanden sich auch wenn man entsprechende Tiere während oder nach dem Krampf tötete oder ihre Gehirne untersuchte, nachdem sie

spontan gestorben waren. Noch eindrucksvoller waren die Befunde, wenn einem Tier im Augenblick des Krampfbeginns Hydergin injiziert wurde. Wie schon oben erwähnt, trat dann innerhalb von wenigen Minuten Bewußtlosigkeit auf, die möglicherweise ihre Ursache in einer schnell einsetzenden allgemeinen Capillarverengerung in den obersten Rindenabschnitten findet, die sich bandförmig über das gesamte Großhirn erstreckt (Abb. 8). In den tieferen Regionen der Rinde finden sich dabei noch einige wenige, aber gut gefüllte Gefäße.

Jötten (1951) hat bei seinen Untersuchungen über die Beeinflussung des Elektrokrampfes durch Hydergin ebenfalls eine deutliche krampfhemmende Wirkung, dagegen keine Veränderung der im Gefolge des Krampfes auch hier auftretenden Durchblutungsstörungen finden können. Als Ursache für den antikonvulsiven Effekt zieht er „die Einschaltung einer vasomotorischen Zentralstelle in die Faktorenreihe der generalisierten Krämpfe" in Betracht.

Um zu klären, ob diese Annahme für den Fall der Insulinkrämpfe zutrifft, haben wir deshalb mit Pendiomid (N,N,N′,N′-3-Pentamethyl-N,N′-diäthyl-3-aza-pentylen-1,5-diammonium-dibromid), einem Pharmakon, das die sympathischen und parasympathischen Ganglien blockiert, weitere Untersuchungen angestellt. Dabei ergab sich, daß Dosen bis zu 20 mg/150 g Tier *keine* Verzögerung des hypoglykämischen Krampfes und Todes herbeiführen, obschon die verengten Hirngefäße selbst in der schwersten Hypoglykämie bis zu einem gewissen Grad wieder eröffnet werden (Abb. 9), oder, sofern die Substanz vor der Insulinapplikation verabfolgt wurde, im gesamten Verlauf der Hypoglykämie mehr oder minder stark erweitert blieben.

Da dieses Pharmakon außerdem blutdrucksenkend wirkt, dürfte auch eine Herabsetzung des in bestimmten Phasen der Hypoglykämie erhöhten Blutdrucks (Rössel u. Wullen, 1952 a u. b) nicht die Ursache der Hyderginwirkung sein. Vor allem Eichholtz beschrieb bekanntlich einen pharmakologischen Antagonismus zwischen Krampfmitteln und bestimmten blutdrucksenkenden Pharmaka.

Es bleibt eigentlich nur noch die Annahme übrig, daß Hydergin den Stoffwechsel im ZNS in bestimmter Weise beeinflußt, sei es, daß dieser in gewissen für die Krampfgenese bedeutungsvollen Zellgruppen generell gesenkt wird und diese deshalb länger mit ihrem Zuckervorrat auskommen, sei es, daß Dysregulationen im Kohlenhydratstoffwechsel normalisiert werden oder sonstige durch den Zuckermangel ausgelöste Störungen sich ausgleichen. Daß Hydergin einen stoffwechselsenkenden Einfluß haben kann, geht aus Untersuchungen von Schmitz hervor. Er fand, daß der Gaswechsel von Ascitestumoren unter dem Einfluß dieses Pharmakons gesenkt wird.

Zusammenfassung.

Dihydrierte Mutterkornalkaloide (Hydergin) verzögern signifikant den Eintritt von Krampf und Tod bei insulinierten Ratten und Mäusen.

Durch postmortale Capillardarstellung im ZNS wird gezeigt, daß dieser Effekt nicht mit einer Verbesserung der in der Hypoglykämie eingeschränkten Hirndurchblutung einhergeht. Im Gegensatz dazu vermag das ganglienblockierende Pendiomid den Insulinspasmus der Gefäße bis zu einem gewissen Grad zu verhindern oder zu beseitigen. Dieses Pharmakon aber hat keinen Einfluß auf die Krampf- und Todeszeiten von insulinierten Tieren.

Es wird vermutet, daß die Ursache der krampfhemmenden Wirkung von dihydrierten Mutterkornalkaloiden ein spezifischer Einfluß auf den in der Hypoglykämie gestörten Kohlenhydratstoffwechsel in bestimmten für die Genese des Krampfes bedeutungsvollen Zellgruppen ist.

Literatur.

Bluntschli, H. J., u. E. Götz: Amer. Heart. **7**, 35 (1948). — Eichholtz, F., u. Th. Kirsch: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 674 (1937). — Hafkenschil, J. H., C. W. Crumpton u. J. H. Moyer: J. of Pharmacol. **98**, 144 (1950). — Jötten, J.: Arch. f. Psychiatr. **187**, 153 (1951). — Medizinische **1952**, 691. — Rössel, W., u. H. Osswald: Pflügers Arch. **254**, 214 (1951). — Klin. Wschr. **30**, 476 (1952). — Rössel, W., u. L. Wullen: Pflügers Arch. **254**, 412 (1952); **256**, 55 (1952). — Rothlin, E., u. M. Taeschler: Helvet. Physiol. Acta **9**, 37 (1951). — Schmitz, H.: Arzneimittelforschung **1**, 99 (1951). — Schneider, M., u. K. Wiemers: Klin. Wschr. **33/34** (1951). — Slonimski, P., u. M. Cunge: Folia Morphol. **7**, 1 (1937).

Dr. H. Osswald, Institut für normale und pathologische Physiologie der Universität Köln, Zülpicherstr. 47.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 302—307 (1953).

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. G. von Bergmann).

Über die Wirkung des Prostigmins auf den arteriellen Kreislauf und den Sauerstoffverbrauch des Menschen.

Von
W. Schimmler.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. November 1952.)

In Fortführung von Versuchen über den Einfluß vegetativ wirksamer Pharmaka auf den arteriellen Kreislauf und den Gesamtsauerstoffverbrauch des Menschen wurde das Prostigmin bei gesunden Versuchspersonen und bei solchen mit pathophysiologischem Kreislauf untersucht.

In Fällen mit normalem Blutdruck wurde bereits von Altana[1] eine Minutenvolumenbestimmung mit der physikalischen Methode von Wezler u. Böger durchgeführt. In einer früheren Versuchsreihe, die lediglich Untersuchungen über die Veränderungen der arteriellen Dynamik zum Ziele hatte, sahen wir[12, 13, 16], daß die Wirkungsrichtung des Pharmakons aller Wahrscheinlichkeit nach von der vegetativ nervösen Ausgangslage abhängig ist.

Diesmal wurde das Minutenvolumen und der Sauerstoffverbrauch *gleichzeitig* bestimmt. Das Hauptinteresse galt solchen Fällen, bei denen das Minutenvolumen und meist auch der Sauerstoffverbrauch schon in Ruhe erhöht waren. Es war zu klären, ob das Prostigmin neben seinem Angriffspunkt am peripheren Kreislauf auch noch eine Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch besitzt. Untersuchungen dieser Art sind im Schrifttum bisher noch nicht bekannt.

Methode.

Die Kreislaufanalysen wurden mit der sphygmographischen Methode nach Broemser u. Ranke und Wezler u. Boeger[2, 15] durchgeführt. Die Berechnung des Schlagvolumens erfolgte dabei nach der Broemser-Rankeschen Formel mit dem Faktor $z = 0{,}5$; der periphere Gesamtwiderstand wurde aus dem Quotienten Mitteldruck : Stromstärke errechnet. Der Sauerstoffverbrauch, die CO_2-Ausscheidung und das Atemvolumen wurden mit dem Grundumsatzgerät von Hartmann u. Braun fortlaufend registriert. Zur genaueren Orientierung über die beiden zur Anwendung gekommenen Methoden wird auf die Fachliteratur verwiesen[2, 6, 15].

Versuchsanordnung.

Die Vp. wurde morgens 7,30 Uhr vom Bett ins Laboratorium gefahren und lag dann unter strengen Grundumsatzbedingungen etwa 1½ Std bis zum Versuchsbeginn. Die Gasstoffwechselwerte wurden im Abstand von 1 min abgelesen. Die

Registrierung der Pulswellen erfolgte in zeitlich stets gleichbleibender Weise unmittelbar nach Ablesung der zugehörigen Stoffwechselwerte. Durch Einberechnung der Latenzzeit des Gasstoffwechselschreibers bis zur Anzeige des prozentualen O_2-Defizits ist eine befriedigend genaue Koordination der gemessenen Minutenvolumina mit den Sauerstoffverbrauchswerten möglich. Die Ruhewerte des Sauerstoffverbrauchs wurden durchschnittlich 8—10 min lang bestimmt. Dann bekam die Vp. entweder ½ oder 1 mg Prostigmin i.m. injiziert.

Die Versuchsreihe mit kombinierter Schlagvolumen- und O_2-Verbrauchsmessung umfaßt 10 Untersuchungen. Zur Darstellung der Prostigminwirkung auf den Kreislauf wird auf eine noch nicht veröffentlichte Tabelle mit 16 früheren Versuchen zurückgegriffen.

Ergebnisse.

1. Die Wirkung auf den arteriellen Kreislauf.

In der Tab. 1 sind die Versuchsergebnisse von 16 Personen nach einer Injektion von ½ mg Prostigmin zusammengefaßt. Man sieht, daß die meist niedrigen Minutenvolumina am Höhepunkt der Prostigminwirkung gesteigert und umgekehrt hohe Ausgangsminutenvolumina auffallend vermindert sind. Der 1., 5., 7. und 14. in der Tab. 1 gezeigte Versuch lassen eine Gesetzmäßigkeit der Prostigminwirkung von der Ausgangslage nicht erkennen. Bei ihnen erfolgt von einem normalen Durchschnittsminutenvolumen aus einmal eine Zunahme, das andere Mal eine

Tabelle 1.

Nr.	*Pm*		*Fr*		*Ca*		*Vs*		*Vm*		*E'*		*W*		*Z*
610	79	70	61	60	5,9	7,0	65	83	4,0	5,0	440	470	1600	1180	25′
649	96	101	85	78	7,4	6,4	34	52	2,9	4,0	900	750	2650	2010	12′
530	100	85	96	93	10,1	9,9	35	58	3,4	5,4	850	800	2360	1250	11′
569	153	155	67	62	21,8	16,9	39	71	2,6	4,4	1700	900	4700	2800	10′
581	140	135	63	60	9,2	7,3	63	85	3,8	5,4	650	500	2900	2000	10′
613	93	96	75	72	10,2	9,1	34	47	2,5	3,4	900	700	2900	2300	20′
630	126	127	75	70	6,5	7,2	51	45	3,7	3,1	630	740	2700	3270	15′
539	132	127	64	77	7,7	14,5	74	36	4,7	2,8	575	1200	2250	3650	20′
659	115	110	67	63	13,0	15,0	67	49	4,5	3,1	900	1000	2060	2840	20′
665	109	111	70	73	13,0	18,0	87	55	6,1	4,0	800	1220	1425	2200	20′
658	98	98	78	65	10,6	14,0	103	65	8,0	4,3	700	870	970	1835	20′
683	153	130	73	64	11,5	12,5	105	64	7,6	4,0	850	920	1600	2600	25′
621	100	92	96	80	5,3	5,9	95	64	9,1	5,1	640	680	900	1400	25′
628	88	92	82	72	7,5	7,5	40	29	3,3	2,1	920	950	1900	3500	28′
533	keine Änderung gegenüber den Ruhewerten														
758	keine Änderung gegenüber den Ruhewerten														

Zeichenerklärung. (Die Ruhewerte stehen jeweils links, die Werte des Wirkungsmaximums rechts in der Rubrik.) *Pm* Mitteldruck in mm Hg; *Fr* Puls pro Minute; *Ca* Pulswellengeschwindigkeit in der Aorta in M/sec; *Vs* Schlagvolumen in cm^3; *Vm* Minutenvolumen in Liter; *E'* elastischer Widerstand der Aorta in dyn/cm^5; *W* peripherer Widerstand in dyn-sec/cm^5; *Z* Zeitpunkt des Wirkungsmaximums in Minuten post iniectionem; *Nr.* Protokollnummer des Versuchs.

Abnahme. Als Kriterium des Minutenvolumenanstieges kann das Verhalten der Pulswellengeschwindigkeit herangezogen werden, die am Maximum der pharmakologischen Wirkung einen deutlichen *Rückgang* entsprechend dem Abfall des elastischen Widerstandes der Aorta zeigt. Analog dazu wird auch der periphere Gesamtwiderstand reduziert. In den Fällen, in denen das Minutenvolumen abnimmt, steigt die Pulswellengeschwindigkeit fast immer an. Der periphere Widerstand wird stets vergrößert, auch dann, wenn der Mitteldruck tiefer absinkt, weil nämlich das Minutenvolumen prozentual stärker als der Mitteldruck verkleinert wird. Auch das Verhalten der Herzleistung ist in der Hauptsache von den Veränderungen des Minutenvolumens abhängig, da eben der Mitteldruck nur in einigen wenigen Fällen gegenüber seinem Ruhewert bedeutender variiert.

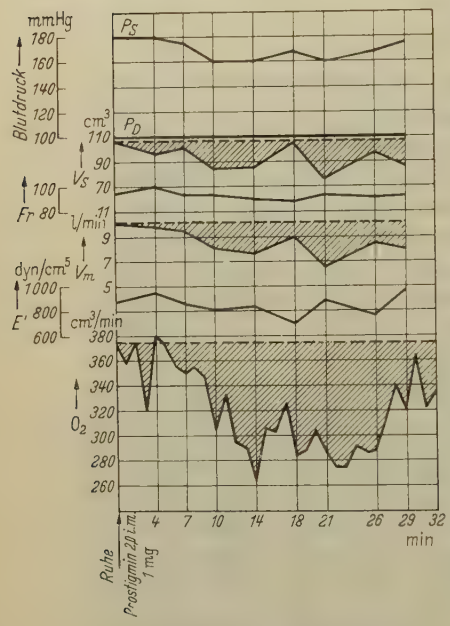


Abb. 1. Maria G., 55 Jahre, Prot.-Nr.: 546/52. Essentieller Hypertonus, Hyperthyreose. Senkung des Minutenvolumens und des Sauerstoffverbrauchs. Ruhe-O_2-Verbr. pro kg = 8,0c m³/min.

2. Die Wirkung auf den arteriellen Kreislauf und auf den Sauerstoffverbrauch.

Die Abb. 1 zeigt den Verlauf der Wirkung von 1 mg Prostigmin i. m. an einer Kranken. Der in die Abbildung eingetragene Wert für den Ruhesauerstoffverbrauch ist aus einer 9 min dauernden Messung gemittelt. Das Ruheminutenvolumen ist bei der 55 Jahre alten Versuchsperson beträchtlich erhöht. Der Sauerstoffverbrauch pro kg Körpergewicht und Minute liegt mit 8,0 cm³ weit über der Norm. Man sieht, daß das Minutenvolumen und der O_2-Verbrauch parallel und prozentual in fast gleichen Ausmaßen absinken. 6 ähnlich verlaufende Fälle sind in der Tab. 2 zusammengefaßt. Der durchschnittliche Ruhe-O_2-Verbrauch liegt hier bei 6,2 cm³ pro Kilogramm Körpergewicht und pro Minute, das durchschnittliche Ruheminutenvolumen bei 6,6 l. Das Durchschnittsalter beträgt 34 Jahre. Das Zustandekommen einer O_2-Schuld, die nach dem Abklingen der Prostigminwirkung durch eine erhöhte Sauerstoffkonsumption nachgeholt würde, ist in keinem dieser Versuche zu erkennen. Der Rückgang des O_2-Verbrauchs kann also nicht durch die Abnahme des Minutenvolumens bedingt sein.

Bei 3 Versuchspersonen tritt kaum eine Änderung des Sauerstoffbedarfs ein. Die Durchschnittswerte für den Sauerstoffverbrauch liegen

hier bei 4,8 cm³/kg. Interessant ist jedoch, daß das in dem einen Fall gesteigerte Ruheminutenvolumen deutlich gesenkt und das in dem anderen Fall (Abb. 2) zu niedere Minutenvolumen erhöht wird. Die in Abb. 2 zu sehende Mehraufnahme an Sauerstoff dürfte nicht einem echten Mehrbedarf entsprechen, da der Sauerstoffverbrauch nachher unter den Ruhewert absinkt. Es handelt sich wohl nur um zusätzliche O_2-Aufnahme des vermehrt die Lunge durchströmenden venösen Blutes, das aus den allmählich sich entleerenden Blutspeichern stammt. Ein echter Anstieg des Sauerstoffbedarfs war also in keinem der 10 untersuchten Fälle nachzuweisen.

Die Wirkung der intramuskulären Injektion erstreckte sich über einen Zeitraum von 20 bis 30 min, der Zeitpunkt des Wirkungseintritts lag zwischen 6 und 15 min post injektionem. Ein auffallender Unterschied im Ausmaß der Wirkung zwischen der Dosierung von ½ oder 1 mg bestand nicht.

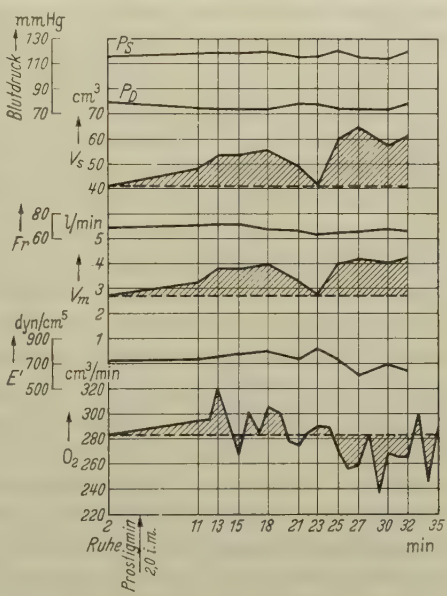


Abb. 2. Maria H., 27 Jahre, Prot.-Nr.: 492/52. Ruhe-O_2-Verbrauch pro kg = 4,9 cm³/min.

Tabelle 2.

Nr.	*Pm*		*ΔP*		*Fr*		*Vm*	*Avm*	O_2-*Ges.*		O_2/kg		*As*	*Z*
550	85	86	50	34	53	49	4,0 2,5	38%	404	328	6,1	4,9	20%	14.—24.′ p. i.
551	95	94	30	23	68	62	2,9 2,2	25%	302	235	4,9	3,9	21%	21.—32.′ p. i.
545	142	135	85	71	67	54	9,8 4,7	52%	390	315	6,1	4,9	20%	15.—24.′ p. i.
511	112	103	62	48	91	80	——	—	340	270	8,0	6,4	20%	25.—35.′ p. i.
536	100	101	40	27	70	68	5,7 3,4	41%	305	200	5,0	3,3	34%	12.—22.′ p. i.
543	95	97	30	21	81	71	— —	—	340	315	5,2	4,8	8%	17.—22.′ p. i.
546	140	131	80	62	97	89	10,57,9	25%	375	285	8,0	6,0	25%	14.—26.′ p. i.

Zeichenerklärung. *Pm* Mitteldruck in mm Hg; *ΔP* Blutdruckamplitude; *Fr* Puls/min; *Vm* Minutenvolumen in Litern; *Avm* prozentuale Abnahme des Minutenvolumens; O_2-*Ges.* Gesamtsauerstoffverbrauch pro Minute; O_2/kg Sauerstoffverbrauch pro kg Körpergewicht; *As* prozentuale Abnahme des Sauerstoffverbrauches; *Z* Zeitspanne, der die jeweils rechts in jeder Rubrik stehenden Werte, die stets Durchschnittswerte von 5—12 Sauerstoffverbrauchsbestimmungen bzw. 3—5 Minutenvolumregistrierungen darstellen, zuzuordnen sind. Die Ruhewerte stehen links in jeder Rubrik und stellen ebenfalls Durchschnittswerte über 8—15 min dar.

Besprechung der Ergebnisse:

Wir haben das eigenartige Bild vor uns, daß das Prostigmin in seiner Wirkung auf die Dynamik des arteriellen Kreislaufs eine deutliche Abhängigkeit von der Ausgangslage insofern zeigt, als erhöhte Ruheminutenvolumina gesenkt und auffallend niedrige häufig erhöht werden, daß aber der Sauerstoffverbrauch sich stets nur in einer Richtung verändert. Freilich ist auch hier eine Abhängigkeit von der Ausgangslage bemerkenswert, da der Sauerstoffverbrauch, je höher er bereits in Ruhe ist, um so ausgiebiger gesenkt zu werden scheint. Die Reduzierung des Minutenvolumens und des Sauerstoffverbrauchs kann bei erhöhten Ausgangslagen auf die Hemmung der Cholinesterasen, die Loewi[9] als spezifischen Prostigmineffekt erstmals beschrieb, zurückgeführt werden, zumal Stropeni u. Battezatti[14] und Libbrecht[8] eine Erhöhung des Cholinesterasespiegels beim essentiellen Hypertonus fanden, der, nach den zahlreichen Untersuchungen von Wezler u. Boeger[15], Delius[3], Reindell[10] und Schimert[12], meist mit einem erhöhten Ruheminutenvolumen und nicht selten auch mit einer Erhöhung des Ruhesauerstoffverbrauchs einhergeht. Darüber hinaus aber scheint das Prostigmin auch eine unmittelbare Wirkung, die man nicht notwendigerweise mit einer Cholinesterasehemmung zu erklären braucht, zu entfalten, da wir es ja in unseren Fällen in der Mehrzahl nicht mit essentiellen Hypertonikern zu tun hatten. In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß Kahlson u. Uvnaes[7] und Dennys u. Levy[4] auf einem anderen Gebiete, nämlich auf dem der Muskelpharmakologie, nachweisen konnten, daß zwischen der Cholinesterasehemmung des Prostigmins und der zuckungssteigernden Wirkung gegenüber dem Acetylcholin keine Beziehung zu bestehen scheint. Eine direkte oder die indirekt durch die Cholinesterasehemmung bedingte Kreislaufwirkung ist der des Acetylcholins sehr ähnlich. So zeigte sich auf Acetylcholin häufig eine Herabsetzung des Minutenvolumens. Kürzlich beschrieb Gollwitzer-Meier[5] eine Senkung des Sauerstoffverbrauchs am durchströmten Muskel bei gleichzeitiger Verschiebung der p_H-Werte auf die alkalische Seite nach Acetylcholininjektion. Nach Riesser[11] sind bisher eindeutige Wirkungen des Prostigmins auf den Muskelstoffwechsel noch nicht bekannt. Nachdem aber die quergestreifte Muskulatur den Hauptanteil des Sauerstoffs verbraucht, dürfte es auf Grund der vorliegenden Ergebnisse sehr wahrscheinlich sein, daß das Prostigmin ähnlich wie das Acetylcholin, den Muskelstoffwechsel zu senken vermag. Inwieweit dabei Änderungen des Muskeltonus eine Rolle spielen, kann hier nicht entschieden werden.

Bei den Fällen, die auf Prostigmin mit einem Anstieg des Minutenvolumens reagieren, ohne daß der Sauerstoffverbrauch sich gleichsinnig ändert, scheint die Minutenvolumenerhöhung in Wirklichkeit nicht den Stoffwechselbedürfnissen der Peripherie zu entsprechen. Es dürften

hier vielmehr die arteriovenösen Kurzschlüsse eine wesentliche Rolle spielen, die eröffnet eine Vergrößerung des Minutenvolumens hervorrufen, ohne daß dies vom aktuellen Sauerstoffbedarf gefordert wird. Auffallend ist jedenfalls, daß gerade in Fällen mit zentralisiertem Kreislauf, bei dem die arterio-venösen Anastomosen sicherlich vorwiegend geschlossen sind, diese Minutenvolumsteigerung durch das Prostigmin zu beobachten ist. Vielleicht handelt es sich dabei um eine regulatorische Maßnahme des Organismus gegen den zusätzlichen cholinergisch-histotropen Einfluß des Pharmakons.

Zusammenfassung.

Mit der physikalischen Methode der Schlag- und Minutenvolumenbestimmung nach Broemser u. Ranke und mit dem Hartmann und Braunschen Gaswechselschreiber wurde der Einfluß von ½ oder 1 mg Prostigmin auf den arteriellen Kreislauf und auf den Sauerstoffverbrauch des Menschen untersucht.

1. Die Veränderungen der Kreislaufdynamik waren weitgehend abhängig von der vegetativ nervösen Ausgangslage.

2. Der Sauerstoffverbrauch nahm in 7 von den 10 mit kombinierter Methode untersuchten Fällen ab, am ausgiebigsten, wenn der Ruhesauerstoffverbrauch stärker erhöht war. Das Minutenvolumen verhielt sich analog. Eine Zunahme des Sauerstoffverbrauchs konnte nicht beobachtet werden.

3. In 3 Fällen blieb der O_2-Verbrauch unverändert. Der Sauerstoffruhewert entsprach der Normbreite. Bei einem Fall nahm dabei das erhöhte Minutenvolumen ab, bei dem anderen das auffallend niedere Ruheminutenvolumen zu.

Literatur.

[1] Altana, G.: Fol. cardiol. (Milano) **8**, 285 (1949). — [2] Broemser u. Ranke: Z. Biol. **90**, 467 (1930). — [3] Delius: Arch. Kreisl.forschg **11**, 1 (1942). — [4] Dennys and Lêvy: C. r. Soc. Biol. Paris **141**, 735 (1947). — [5] Gollwitzer-Meier: Lancet **4**, 381 (1950). — [6] Göpfert, H.: Dtsch. Arch. klin. Med. **194**, 514 (1949). — [7] Kahlson u. Uvnäs: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **78**, 40 (1938). — [8] Libbrecht, L.: Schweiz. med. Wschr. **1945**, Nr. 42. — [9] Loewi, O.: Pflügers Arch. **189**, 293 (1918). — [10] Reindell: Arch. Kreisl.forschg **12**, 265 (1943). — [11] Riesser, O., Muskelpharmakologie. Bern: Huber 1949. — [12] Schimert, G.: Schweiz. med. Wschr. **81**, 598 (1951). — [13] Schimmler, W.: Diss. München 1949. — [14] Stropeni u. Battezatti: Klin. Wschr. **1942**, Nr. 16. — [15] Wezler u. Böger: Erg. Physiol. **1939**, **41**. — [16] Zickgraf, H.: Unveröffentlichte Ergebnisse.

Dr. W. Schimmler, II. Med. Klinik der Universität München.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 308—312 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Hemmung des Patellarsehnenreflexes durch zentral und peripher wirkende Stoffe.

Von

K. H. Ginzel, H. Klupp, H. Stormann und G. Werner.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. November 1952.)

Nicotin vermag in relativ kleinen Dosen den Patellarsehnenreflex (PSR) zu hemmen; es handelt sich dabei um eine Wirkung auf das Rückenmark[1, 2]. Für Dekamethonium (C 10) sowie für einige Bis-Cholin-äther konnten wir zeigen, daß auch diese Substanzen in einem Dosenbereich bereits den PSR herabsetzen, in dem noch keine Veränderung der indirekten Erregbarkeit des Muskels nachweisbar ist[3]; die Versuche wurden in Chloralosenarkose oder an dekapitierten Katzen durchgeführt*; dabei wurde der Vergleichsmuskel (M. quadriceps der Gegenseite) vom zugehörigen Nerven her sowohl durch supramaximale Einzelreize als auch durch Tetani einer Frequenz von 20 pro Sekunde gereizt. (Diese Frequenz entspricht der Impulsfolge, die bei reflektorisch ausgelösten Muskelkontraktionen in Einzelfasern nachgewiesen werden konnte[4].) In Versuchen mit gekreuzter Durchströmung war festzustellen, daß die Reflexausschaltung durch die genannten muskellähmenden Stoffe zum Unterschied von Nicotin nicht durch eine Wirkung auf das Zentralnervensystem bedingt ist. Auf Grund dieser Beobachtungen kamen wir zu der Auffassung, daß es sich dabei um eine Wirkung auf den Spindelapparat von Skeletmuskeln handelt.

Wir berichten nunmehr über einige Versuche zur weiteren Charakterisierung sowohl der durch Nicotin als auch der durch C 10 bzw. einige Bis-Cholin-äther bewirkten Ausschaltung des PSR.

Methodik.

Die Versuche wurden an Katzen in Chloralosenarkose (80 mg/kg) bzw. an in Äthernarkose dekapitierten Tieren durchgeführt. Der PSR wurde nach der Methode von Schweitzer und Wright[5] mittels eines automatischen Reflexhammers in regelmäßigen Zeitabständen von je 6 bzw. 12 sec ausgelöst. In den meisten Versuchen wurde zu Vergleichszwecken der M. quadriceps der Gegenseite vom peripheren Stumpf des N. femoralis her supramaximal mit Einzelimpulsen einer Frequenz von 6 pro Minute gereizt. Zur Erzielung einer Förderung bzw. einer Hemmung

* Bei der Verwendung von Dial als Narkoticum zeigt sich, daß wesentlich höhere Dosen von Nicotin zur Reflexausschaltung erforderlich sind[2] und eine elektive Ausschaltung des PSR durch C 10 usw. nicht nachweisbar wird.

des PSR durch Reizung entsprechender Punkte der Formatio reticularis des Zwischenhirnes[6] wurde unipolar mit Rechteckimpulsen einer Frequenz von 100 bis 300 pro Sekunde und einer Stromstärke von 0,2—0,8 mA gereizt. Die Elektrode, die mit Ausnahme der Spitze mit isolierendem Lack überzogen war, wurde mittels eines stereotaxischen Gerätes eingestochen. Der gekreuzte Streckreflex wurde alternierend mit dem PSR durch Reizung des zentralen Stumpfes des kontralateralen N. ischiadicus ausgelöst. In anderen Versuchen wurde der ipsilaterale Flexorreflex (M. tibialis anterior) bei Reizung des zentralen Stumpfes des N. suralis registriert.

Die folgenden Substanzen wurden in diesen Versuchen verwendet: Nicotin und Strychnin als Tartrate; Deka- und Hexamethoniumbromid; o-Toluylglycerinäther (Myanesin, B.D.H.); Guajacolglycerinäther (Myocain); N-diäthylaminoäthylphenothiazin (Diparcol, Specia); ferner der Bis-Cholin-äther des Tetramethylenglykols (M 133)* sowie der Bis-Cholin-äther des Hydrochinons (M 110).

Ergebnisse und Diskussion.

Durch Reizung fördernder Areale der Formatio reticularis kann die hemmende Wirkung von Nicotin auf den PSR durchbrochen werden; dabei erreicht der Reflex für die Dauer der Reizung nicht nur seine volle Ausgangshöhe, sondern übersteigt diese in etwa demselben Ausmaße wie in den Reizperioden vor bzw. nach der Nicotineinwirkung (Abb. 1).

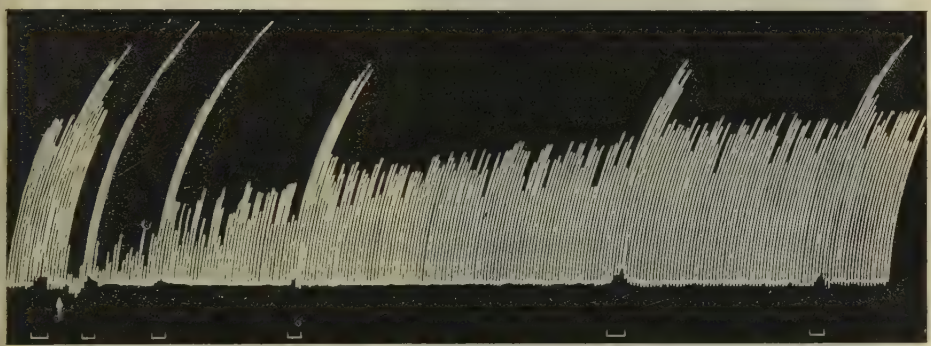


Abb. 1. Katze 2,6 kg; 80 mg/kg Chloralose i.v. ohne Äthereinleitung. Patellarsehnenreflex alle 6 sec. Bei ⌴ Reizung eines fördernden Areals der Formatio reticularis (homolateral). Beim Pfeil i.v. Injektion von 100 μg/kg Nicotin.

Der fördernde Effekt der zentralen Reizung auf den durch Nicotin herabgesetzten PSR ist nur dann zu beobachten, wenn die verwendeten Dosen von Nicotin nicht wesentlich höher liegen als jene, die gerade eine vollkommene Ausschaltung des PSR bewirken. Auf diese Weise gelingt es auch, die Wirkung von C 10 bzw. M 133 und M 110 auf den PSR durch die angegebene Reizung zu durchbrechen; auch hier gilt bezüglich der Dosen dieselbe Einschränkung wie bei Nicotin. Diese

* Diese Substanz ist identisch mit der Verbindung Nr. XXIX aus D. Bovet et al. (Arch. int. Pharmacodyn. 88, 1; 1951). M 110 und M 133 wurden uns von den Österr. Stickstoffwerken überlassen, die die vorliegende Arbeit unterstützten.

Befunde besagen, daß sowohl eine durch zentral als auch eine durch peripher wirkende Stoffe ausgelöste Hemmung des PSR mittels Reizung fördernder Gebiete in der Formatio reticularis aufgehoben werden kann. Es ist überraschend, daß zentrale und periphere Unterbrechung des Reflexbogens in der gleichen Weise von seiten der Formatio reticularis zu beeinflussen sind.

Eine Steigerung des PSR, wie sie experimentell durch Reizung des Hirnstammes erzielt werden kann, stellt auch ein Symptom des klinischen Zustandsbildes der Spastizität dar[7]; es ist nicht zu erwarten, daß Stoffe, deren hemmende Wirkung auf den PSR durch zentralen Reiz durchbrochen werden kann, bei der Behandlung der Spastizität therapeutisch wirksam sind.

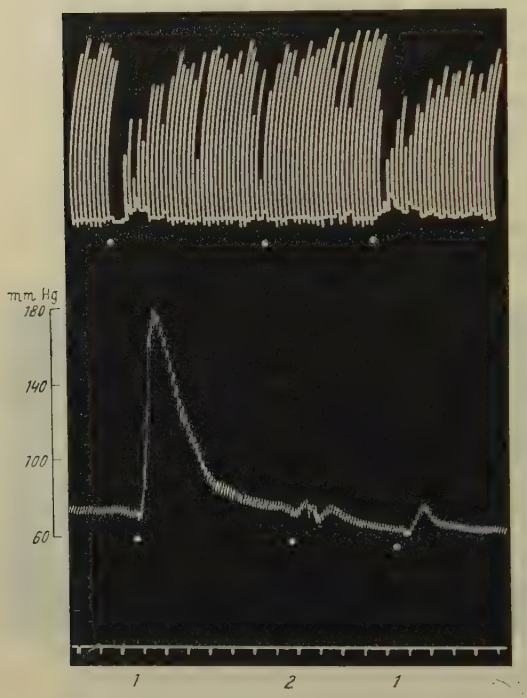


Abb. 2. Katze 3,1 kg; in Äther dekapitiert. Obere Kurve: Patellarsehnenreflex, alle 6 sec; darunter: Blutdruck in mm Hg; Zeit: 30 sec. Bei *1*: 75 µg/kg Nicotin; bei *2*: 2 mg/kg C 6; Injekt. in die Vena jugularis.

Auch gegenüber der reflexsteigernden Wirkung von Strychnin verhält sich die PSR-Hemmung durch Nicotin einerseits sowie durch C 10, M 110 und M 133 andererseits gleich: In beiden Fällen vermag Strychnin in Dosen von etwa 50 µg/kg die anfängliche Reflexhöhe wieder herzustellen bzw. über das Ausgangsniveau zu steigern.

Im Verlauf dieser Versuche stellten wir fest, daß eine Durchströmung des M. quadriceps mit Gleichstrom (5—10 mA) derart, daß die Kathode sehnennahe und die Anode in der Leistengegend angelegt wurde, eine Hemmung des PSR für die Dauer der Polarisation bewirkt. Durch Umkehr der Stromrichtung gelingt es, eine Lähmung des PSR durch C 10 bzw. durch die Bis-Cholin-äther zu durchbrechen. Obwohl Nicotin den PSR durch eine Wirkung auf das Rückenmark hemmt, ist es dennoch möglich, auch diese Hemmung des PSR durch die angegebene Polarisation des M. quadriceps aufzuheben.

Myanesin[8] ebenso wie Myocain[9] schalten in Dosen von 20—30 mg/kg, die an sich keinen hemmenden Einfluß auf den PSR haben, den Effekt fördernder sowie hemmender Reizung entsprechender Zentren der Formatio reticularis aus; dieselben Dosen beeinflussen die Nicotinwirkung

auf den Reflex nicht, verhindern aber naturgemäß seine Durchbrechung durch zentralen Reiz.

Wir untersuchten ferner, ob die PSR hemmende Wirkung von Nicotin durch Stoffe mit nicotin-antagonistischer Wirkung beeinflußt wird. Diese Versuche wurden mit Hexamethonium (C 6)[10] und Diparcol[11,12] durchgeführt. C 6 wurde dabei als Vertreter jener Gruppe von Substanzen ausgewählt, deren Antinicotinwirkung vorwiegend an den autonomen Ganglien in Erscheinung tritt; Diparcol hingegen ist auch ein sehr wirksamer Antagonist der Nicotinkrämpfe[13]. Die genannten Substanzen beeinflussen in Dosen von 3,0 (C 6) bzw. 5,0—15,0 mg/kg (Diparcol) den PSR nicht. Weder durch C 6 noch durch Diparcol konnte die Wirkung von Nicotin auf das Rückenmark abgeschwächt werden, obwohl der Blutdruckanstieg nach Nicotin ausblieb (Abb. 2). Der Antagonismus dieser Stoffe gegenüber Nicotin erstreckt sich somit nicht auf dessen PSR-hemmende Rückenmarkswirkung. Andererseits fanden wir Substanzen mit starker nicotinartig erregender Wirkung auf autonome Ganglien, die keine Wirkung auf den PSR haben: Dies gilt z. B. für den Sebacin-bis-cholin-ester[14] in Dosen, die den Blutdruck ebenso erhöhen wie reflexlähmende Dosen von Nicotin.

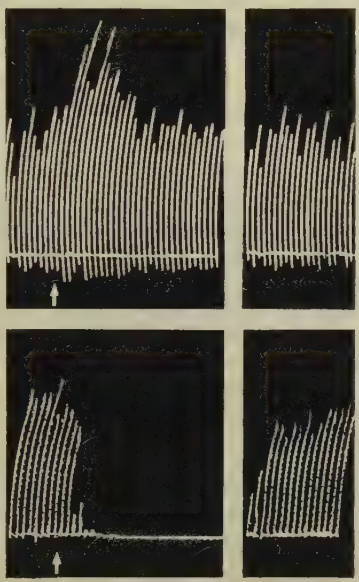


Abb. 3. Katze 3,0 kg; 80 mg/kg Chloralose ohne Äthereinleitung. Ob. Kurve: Flexorreflex alle 10 sec; untere Kurve: Patellarsehnenreflex alle 12 sec am anderen Bein. Beim Pfeil 100 µg/kg M 133 i.v.

C 10 sowie die Bis-Cholinäther M 133 und M 110 setzen in Dosen, die bei unveränderter indirekter Erregbarkeit des Vergleichsmuskels den PSR hemmen, weder den Flexor- noch den Extensorreflex herab (Abb. 3). Ihre reflexhemmende Wirkung beschränkt sich also auf den PSR als Beispiel eines Reflexes, der an die Funktion des Spindelapparates gebunden ist. Zusammen mit den eingangs mitgeteilten Befunden unterstützen diese Beobachtungen unsere Auffassung, wonach der Spindelapparat der Skeletmuskulatur den Wirkungsort dieser Substanzen darstellt.

Für den Ablauf von spinalen Reflexen ist eine bestimmte „background activity" erforderlich, die zum Teil auf der Funktion des Spindelapparates sowie dessen zugehörigen afferenten und efferenten („small motor nerves") Neuronen beruht[15]. Im Falle des PSR sind die dehnungsempfindlichen Endorgane des Spindelapparates außerdem die reflexauslösenden Receptoren. Eine Unterbrechung des Impulsablaufes an irgendeiner

Stelle dieses „feedback-systems" zwischen Spindelapparat und zentralen Synapsen der „small motor nerves" bzw. der motorischen Vorderhornzelle muß daher zu einer besonderen Beeinträchtigung des PSR führen. Unabhängig davon, ob die Hemmung des PSR zentral (Nicotin) oder peripher (M 133 usw.) erfolgt, kann sie nach den geschilderten Beobachtungen durch Reizung der Formatio reticularis bzw. durch Strychnin einerseits, durch Polarisation des M. quadriceps andererseits aufgehoben werden. Wir stellen uns daher vor, daß Nicotin und die peripher wirkenden Stoffe die Funktion des genannten Systems beeinträchtigen, wobei Nicotin an einem im Rückenmark gelegenen Punkt desselben angreift, während C 10 und die Bis-Cholinäther den peripheren Anteil dieses Systems beeinflussen.

Zusammenfassung.

Nicotin vermag ebenso wie Dekamethonium und die Bis-Cholinäther des Hydrochinons und des Tetramethylenglykols den Patellarsehnenreflex in selektiver Weise auszuschalten. Der Angriffspunkt dieser reflexausschaltenden Wirkung liegt bei Nicotin im Rückenmark, bei Dekamethonium und den Bis-Cholinäthern dagegen in der Muskulatur, ist aber unabhängig von der nach höheren Dosen dieser Substanzen im Vordergrund stehenden neuromuskulär lähmenden Wirkung.

Die Reflexausschaltung durch Nicotin kann nicht durch typische Nicotinantagonisten wie Hexamethonium und Diparcol aufgehoben werden. Dagegen ist es möglich, die Wirkung von Nicotin und den anderen PSR-hemmenden Substanzen sowohl durch Reizung fördernder Areale der formatio reticularis des Zwischenhirnes als auch durch Polarisation des Musc. quadriceps bei entsprechender Durchströmung mit Gleichstrom aufzuheben.

Zur Erklärung der reflexunterbrechenden Wirkung wird bei Nicotin eine zentrale, bei Dekamethonium und den Bis-Cholinäthern eine periphere Beeinflussung des Spindelapparat-Systems angenommen.

Literatur.

[1] Schweitzer, A., S. Wright: J. of Physiol. **94**, 136 (1938). — [2] Harreveld, A. van, G. A. Feigen: J. Neurophysiol. **11**, 141 (1948). — [3] Ginzel, K. H., H. Klupp, H. Stormann, G. Werner: Arzneimittelforschg **2**, 271 (1952). — [4] Gordon, G., A. H. S. Holborn: J. of Physiol. **110**, 26 (1949). — [5] Schweitzer, A., S. Wright: J. of Physiol. **88**, 459 (1936). — [6] Magoun, H. W., R. Rhines: J. Neurophysiol. **9**, 165 (1946); **9**, 219 (1946). — [7] Magoun, H. W., R. Rhines: „Spasticity", Springfield, Ill.: C. C. Thomas 1947. — [8] Berger, F. M.: Brit. J. Pharmacol. **2**, 241 (1947). — [9] Ginzel, K. H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 331 (1951). — [10] Paton, W. D. M., E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **6**, 155 (1951). — [11] Bovet, D., J. Fournel, P. Charpentier: Thérapie **2**, 115 (1947). — [12] Heymans, C., J. J. Estable, S. Castillo de Bonnevaux: Arch. internat. Pharmacodynamie **79**, 185 (1949). — [13] Bovet, D., V. Longo: J. of Pharmacol. **102**, 22 (1949). — [14] Ginzel, K. H., H. Klupp, G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **89**, 160 (1952). — [15] Hunt, C. C.: J. of Physiol. **115**, 456 (1951).

Dr. H. Klupp, Pharmakol. Inst. der Univ. Wien IX/71, Währingerstr. 13 A.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 313—319 (1953).

Aus dem Max Planck-Institut für Chemie, Mainz
(Chem. Abt. Prof. Dr. F. Strassmann).

Weitere Untersuchungen zur Bestimmung der reticulo-endothelialen Clearance für Makromoleküle von P^{32}-markiertem Kalium-Natrium-Polyphosphat.

II. Mitteilung.

Von
Max Frimmer.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Dezember 1952.)

In einer vorangegangenen Abhandlung war gezeigt worden, daß Kalium-Natrium-Polyphosphat (PP) nach intravenöser Verabfolgung vom RES aus dem Blut eliminiert wird und daß die Konzentration des PP im Blut anfangs exponentiell abnimmt. Dadurch war es möglich, mit der Eliminationshalbwertszeit (EHZ) eine meßbare Zahl für die jeweilige Eliminationsfähigkeit des RES anzugeben. Die zu Anfang jedes Versuches exponentiell absinkende Konzentrationszeitkurve läuft nach einiger Zeit in einer Parallelen zur Abszisse aus und behält einen stundenlang konstanten Wert. Da das markierte PP regelmäßig in den Hauptorganen des RES wiedergefunden wurde[1-2] und die Elimination exponentiell erfolgt, liegt die Annahme nahe, daß es sich primär um einen Adsorptionsvorgang handelt. Andererseits wurde ermittelt, daß das eliminierte PP im Laufe einiger Stunden einem Abbau unterliegt. Es lassen sich also drei Stadien vermuten, das der Adsorption, das einer aktiven Aufnahme durch die Zellen im Sinne einer Phagocytose und das eines wahrscheinlich fermentativen Abbaus zu monomerem Phosphat mit Übergang in den intermediären Stoffwechsel.

Um nun zu entscheiden, ob es sich tatsächlich primär um eine Adsorption und nicht um eine echte chemische Bindung handelt, wurde versucht, das an das RES angelagerte PP wieder aus diesem zu verdrängen. Es wurde zu diesem Zwecke PP intravenös injiziert und die Konzentrationszeitkurve aufgenommen bis zu dem Zeitpunkt, an dem der Basiswert mit Sicherheit erreicht war. Dann wurde ein großer Überschuß von nicht markiertem Kollidon (Polyvinylpyrrolidon BASF) gleichfalls intravenös injiziert. Wie die Abb. 1 zeigt, erfolgt daraufhin ein Wiederanstieg der Aktivität im Blut. Wenn auch diese Aktivitätszunahme kein sehr bedeutendes Ausmaß erreicht (es können nicht beliebig große Kollidonmengen injiziert werden), so ist der langdauernde Anstieg doch insofern bemerkenswert, als das injizierte Kollidon zum großen Teil renal eliminiert wird. Es kann zunächst nichts darüber ausgesagt werden, ob es sich um einen Verdrängungsvorgang handelt, der dem Massenwirkungsgesetz folgt, oder ob das PP zum Kollidon größere

Affinität besitzt als zum RES, was dem Prinzip der bekannten Gewebswäsche (nach R. Schubert) entspräche. Wahrscheinlich ist jedoch, daß die Bindung des PP an den Zellen des RES zunächst nicht sehr fest ist, was für die oben postulierte Adsorption zu sprechen scheint. Für eine lockere Bindung des PP im RES spricht weiterhin die Tatsache, daß bei der PP-Injektion in die Pfortader keine quantitative Elimination durch die Leber erfolgt, sondern daß auch hierbei die Konzentrationszeitkurve im peripheren Blut wie nach der Injektion in eine periphere Vene aussieht. Die Bezeichnung Adsorption, deren Untersuchung in vivo nicht ohne weiteres möglich ist, wird vom Verf. hier nicht im strengen Sinne der physikalisch-chemischen Definition gebraucht. Gemeint ist eine bisher noch nicht näher definierbare lockere Bindung. Es muß auch damit gerechnet werden, daß Teile der durch Kollidoninfusion desorbierten Aktivität aus bereits depolymerisiertem Phosphat bestehen.

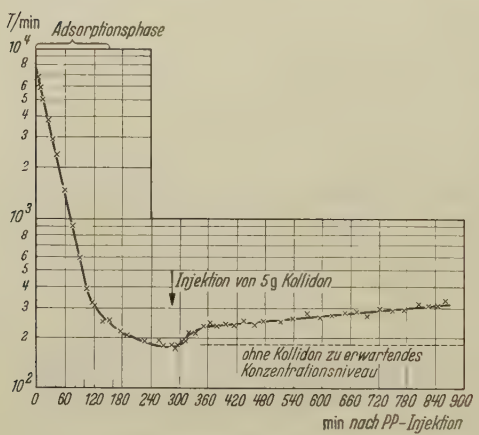


Abb. 1. Konzentrationszeitkurve im Blut nach Injektion von ^{32}P markiertem PP. Der exponentielle Konzentrationsabfall entspricht der Adsorbtionsphase im RES. Desorbtion von PP nach Kollidoninfusion (langsamer Konzentrationsanstieg).

Die EHZ für gewichtsmäßig geringe Mengen PP wurde beim Einzelindividuum bei wiederholter Bestimmung in ein und derselben Narkose als sehr konstant gefunden[1]. An einem heterogenen Tiermaterial unterscheiden sich die Werte der Tiere untereinander ziemlich stark. Es war zunächst daran zu denken, daß die Clearancegröße vom Alter der Versuchstiere abhängt. Wie ein größeres Tiermaterial zeigt, ist dies nicht der Fall. Man muß somit annehmen, daß es sich um eine individuelle, vielleicht auch zum Teil rassebedingte Konstante handelt. Versuche an Tieren aus demselben Wurf konnten bisher noch nicht durchgeführt werden. Möglicherweise spielt auch der nicht immer klar beurteilbare Gesundheitszustand sowie das Ausmaß früherer Erkrankungen der Hunde eine Rolle. Versuche über die Abhängigkeit der Clearance von immunbiologischen Vorgängen sind im Gange.

Kreislaufuntersuchungen, die in anderem Zusammenhang ausgeführt wurden[3], ergaben im akuten pharmakologischen Experiment eine Veränderlichkeit der EHZ und somit der Clearancegröße. Es wurde die Möglichkeit erwogen, daß für diese akuten Veränderungen die Verhältnisse im Milz- und Leberkreislauf verantwortlich zu machen sind. Dabei muß allerdings erst entschieden werden, ob die Durchblutung des Intestinums entscheidend ist oder die Anzahl der jeweils geöffneten

Capillaren in den Hauptadsorptionsorganen (Leber und Milz). Diese Frage befindet sich noch in Bearbeitung. Es darf jedoch als gesichert gelten, daß beim Einzelindividuum die Größe der EHZ von mindestens zwei Faktoren abhängt, von der mit den Receptoren in Berührung kommenden Blutmenge (besonders in Leber und Milz) und von dem Funktionszustand der adsorbierenden Zellen. Kreislaufeinflüsse auf die Größe der EHZ sind keineswegs besonders erstaunlich, da bei der renalen Clearance genügend Analogien bekannt sind. Methodisch jedoch sind die Kreislaufeinflüsse von großer Wichtigkeit, vor allem dann, wenn man aus der Clearancegröße Schlüsse auf den Funktionszustand der Zellen ziehen will. Die tatsächliche Adsorptionsfähigkeit des RES kann durch die jeweiligen Kreislaufverhältnisse stark verschleiert werden. Es ist also nötig, bezüglich des Kreislaufs für konstante Versuchsbedingungen zu sorgen, wenn man den Funktionszustand der Zellen selbst testen will. Es wird bei vielen Pharmaka, deren Einfluß auf die EHZ man untersuchen will, nicht ohne weiteres möglich sein, zu entscheiden, ob es sich bei einer eventuellen Veränderung der EHZ um eine Funktion der Adsorptionsleistung oder der Kreislaufverhältnisse handelt.

Für genauere Untersuchungen war es erforderlich die in der I. Mitteilung[1] empfohlene Methodik etwas zu modifizieren. Es war zwar festgestellt worden, daß in ein und derselben Narkose die EHZ sehr gut reproduzierbar ist. Nur ganz selten kommt es vor, daß unter einem solchen Versuch, etwa beim Nachspritzen von Narkosemitteln oder auch ohne ersichtlichen Grund, die EHZ akute Veränderungen erleidet. Vergleicht man jedoch an zwei verschiedenen Tagen die Clearance ein und desselben Tieres in Narkose, so findet man eine Zunahme der EHZ um 30—55% (Kontrollwert = 100%). Bestimmt man die Clearancegröße zunächst am unnarkotisierten Hund (Injektion und Punktionen an der Vena saphena parva) und anschließend in Narkose in der früher beschriebenen Weise, so erfolgt im 2. Versuch eine Zunahme der EHZ. Bestimmt man am selben Tier die Clearance an einem der folgenden Tage wieder ohne Narkose, so ist auch hierbei noch eine Zunahme gegenüber dem ersten Wert verblieben. Der kleine operative Eingriff der Venaesectio scheint keinen signifikanten Einfluß auf dieses Phänomen zu haben. In Kontrollversuchen, die in Narkose ohne Venaesectio lediglich mit Venenpunktionen durchgeführt wurden, waren die Verhältnisse wie oben. Es muß also angenommen werden, daß schon eine einmalige Narkose einige Tage zu einer signifikanten Verlängerung der EHZ führt.

Unter Annahme eines Einflusses der intestinalen Durchblutungsverhältnisse auf die Clearance war zu vermuten, daß sich die EHZ auch in der Verdauungsphase verändern könne. Es wurde deshalb bei Hunden, die einen Tag gehungert hatten, in nüchternem Zustand ohne Narkose die EHZ bestimmt. Nach einer ausgiebigen Fütterung ergab in 2 von 5 Fällen die Wiederholung der Bestimmung im Stadium der Verdauung eine geringfügige, wenn auch nicht signifikante Verkürzung der EHZ, die als intestinale Mehrdurchblutung zu deuten ist. Nach den bisherigen Erfahrungen muß jedoch der Nüchternzustand der Versuchstiere nicht als unbedingte Voraussetzung gefordert werden.

Viel bedeutsamer erscheint für die Methodik die Psyche der verwendeten Hunde. Besonders aufgeregte Tiere, die sich nach wenigen Versuchen nicht an die Punktionen gewöhnen, ergeben niemals konstante Clearancewerte. Man muß solche Tiere aus den Versuchsreihen ausscheiden. Diese Tatsache ist von den renalen Clearanceversuchen am Hund bekannt und bietet nichts Außergewöhnliches.

Zuweilen (12% des bisherigen Materials) sind die Versuchstiere beim ersten Versuch infolge der ungewohnten Umgebung und Behandlung noch aufgeregt. Man findet dann eine verhältnismäßig kurze EHZ. Schon beim zweiten Versuch verhalten sich die meisten Tiere ruhig und die Clearance ergibt den mutmaßlichen Normalwert mit einer gegenüber dem ersten Wert erheblich verlängerten EHZ, die bei einem dritten Versuch gut reproduzierbar ist. Aus dieser Tatsache ergibt sich in Anlehnung an die Erfahrungen bei renalen Clearanceversuchen, daß der Normalwert mehrmals, mindestens aber zweimal geprüft werden muß, bevor an dem betreffenden Tier ein Pharmakon oder ein Eingriff in bezug auf die EHZ getestet werden kann. Die Testwerte der EHZ sollen von ihrem Mittelwert nicht mehr als 10% abweichen. Zu häufige Durchführung der Clearanceversuche steigern die Exaktheit der Methodik nicht, da sie zu einer Summation von Polyphosphat in Leber und Milz führt. Weiterhin ist bei häufiger Wiederholung mit hohen Teilchenzahlen mit einer Strahlenschädigung der Leber zu rechnen. Außerdem führt die dauernde Venenpunktion zu lokalen Entzündungen und Thrombosierung.

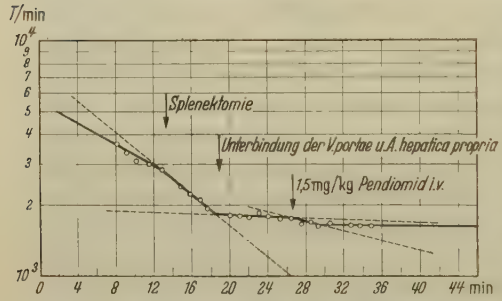


Abb. 2. Veränderung der EHZ nach Splenektomie (Überkompensation). Einschränkung der RES-Clearance durch Leberausschaltung. Keine Eliminationszunahme durch Pendiomid am leberlosen Tier.

Bei den bisherigen Versuchen wurde beim selben Versuchstier zum Clearancetest innerhalb einer Versuchsreihe stets PP aus demselben Herstellungsansatz verwendet. Zur Frage der exakten Übereinstimmung von Clearancewerten, die mit PP-Präparaten aus verschiedenen Ansätzen bestimmt wurden, liegen noch keine größeren Erfahrungen vor. Die Werte stimmen zwar größenordnungsmäßig überein, entsprechen aber nicht immer voll der Genauigkeitsanforderung, die zu Anfang dieser Publikation gestellt wird. Es muß im Interesse der Reproduzierbarkeit empfohlen werden, innerhalb einer Versuchsreihe stets das gleiche Präparat zum Test zu benutzen. Es ist zweckmäßig, das PP in Wasser gelöst aufzubewahren und vor der Injektion mit Kochsalzlösung zu verdünnen, da schon bei Zimmertemperatur bei Anwesenheit von Fremdionen ein Abbau stattfinden kann.

Wie schon erwähnt, sind Leber und Milz die Hauptstellen für die Elimination des PP aus der Blutbahn. Daneben darf aber die Ablagerung in den übrigen Organen nicht übersehen werden, wenn auch der Anreicherungsfaktor in Leber und Milz sehr erheblich ist[1, 2]. Wenn man während der Aufnahme einer Konzentrationszeitkurve für PP in Narkose splenektomiert, ändert sich in der Mehrzahl der Fälle die Clearancegröße nicht (Abb. 2) (in 5 Fällen nachgewiesen). Gegen alle Erwartung

kann sich die EHZ bei der akuten Milzausschaltung sogar verkürzen (3 Fälle EHZ = — 36; — 12; — 40%). Dieses eigenartige Verhalten kann vielleicht durch eine Kompensation der Clearance von seiten der Leber erklärt werden. Unsere Arbeitshypothese geht dahin, daß diese Kompensation durch Öffnung zusätzlicher Capillargebiete vorwiegend in der Leber zustandekommt, wobei noch zu entscheiden wäre, ob das durch die Leber fließende Minutenvolumen zunimmt oder nicht.

Der ursprünglich erwartete Effekt einer Verlängerung der EHZ nach Splenektomie läßt sich durch einen kleinen Kunstgriff nachweisen. Wie früher schon mitgeteilt[3], kann man im akuten Experiment die EHZ von PP durch intravenöse Injektion von Pendiomid (Ciba) schlagartig verkürzen. (Im Extremfall EHZ = — 60%.) Man mobilisiert damit die Clearancereserve der Leber, wobei wir uns diesen Vorgang ebenfalls hämodynamisch vorstellen können. Führt man die Splenektomie nach Pendiomidverabfolgung durch, so wäre nach unserer Annahme die Kompensationsfähigkeit der Leber schon soweit erschöpft, daß die Milzausschaltung zur Verlängerung der EHZ führt (Abb. 3). Es ist auch denkbar, daß eine reflektorische Mehrdurchblutung der Leber nach Milzausschaltung durch Pendiomid unterdrückt wird.

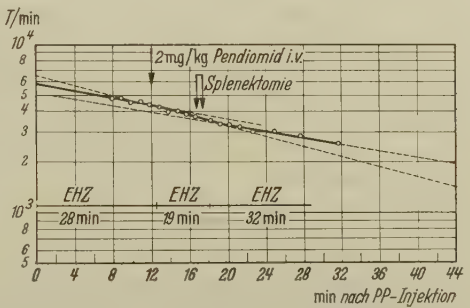


Abb. 3. Nachweis einer Clearanceabnahme durch Splenektomie nach Pendiomidgabe.

Die akute Ausschaltung der Leber durch gleichzeitige Unterbindung der Vena portae und Arteria hepatica propria führt immer spontan zu einer erheblichen Verlängerung der EHZ (Abb. 2). Die äußerst geringe extrahepatische und extralienale Restclearance ist durch Pendiomid nur wenig oder nicht zu beeinflussen. Es kann somit als erwiesen gelten, daß der Leber der Hauptanteil der PP-Clearance zukommt und daß akute Veränderungen der Clearancegröße vorwiegend den Verhältnissen des Leberkreislaufs zuzuschreiben sind. Die Leber vermag die Clearanceleistung der Milz nach deren Wegfall zu ersetzen. Es kann sogar eine Überkompensation eintreten. Wenn das Modell des radioaktiv markierten Polyphosphats auch verallgemeinerte Schlüsse auf die Clearanceleistung des RES für makromoekulare Fremdkörper nicht ohne weiteres zuläßt, so ergibt sich doch der Hinweis, daß man bei der Beurteilung der Eliminationsleistung der Leber beziehungsweise des RES nicht nur den morphologischen Zustand der adsorbierenden Zellen im Auge haben sollte, sondern auch den überragenden Einfluß der Hämodynamik des Systems. Wie früher mitgeteilt[3], kann im Schock die Clearanceleistung bis auf Null absinken.

Am Rande erwähnt sei, daß die Unterbindung der Vena cava caudalis direkt über dem Zwerchfell zu einer weit geringfügigeren Clearance-

verminderung führt als die der Vena portae und Arteria hepatica propria. Man muß unter diesen extremen Bedingungen mit einem Rückfluß des aus den Lebervenen kommenden Blutes über die Vena cava in die untere Körperhälfte und von dort über die bekannten Umwege zum Herzen rechnen. (Blutentnahmen erfolgten bei diesem Versuch aus der Vena jugularis.)

Tabelle 1.

PP Clearance nach CCl_4-Vergiftung			
Datum	3 ml CCl_4 per os	EHZ	%
19. 11. 52	—	13,25	100
20. 11. 52	+		
21. 11. 52	+		
22. 11. 52	+		
24. 11. 52	+	17,5	+ 31
26. 11. 52	—	20,0	+ 51
28. 11. 52	—	20,0	+ 51
2. 12. 52	—	20,5	+ 55
Tier getötet			

Zuletzt wurde die Frage untersucht, inwieweit eine Leberparenchymschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff zu einer Beeinträchtigung der RES-Clearance führt. Vergiftet man einen Hund mit peroralen CCl_4-Gaben, so nimmt die Clearance nur verhältnismäßig wenig ab (Tab. 1). Eine Zunahme EHZ um 55% ist nach bisherigen Erfahrungen unerheblich und wird schon nach wesentlich bedeutungsloserern Eingriffen (Narkose, Bluttransfusion) beobachtet.

Zusammenfassung.

Für die Bestimmung der retikuloendothelialen Clearance für Makromoleküle, die mit ^{32}P markiertem Polyphosphat durchgeführt wird, erfolgt die Beschreibung weiterer methodischer Einzelheiten.

Der Clearancetest muß aus Gründen der Reproduzierbarkeit am unnarkotisierten Tier durchgeführt werden. Psychisch leicht erregbare Tiere ergeben keine reproduzierbare Clearancewerte und können für die Versuche nicht verwendet werden. Eine deutliche Beziehung der Clearancegröße zur Füllung des Magen-Darmtraktes mit Futter besteht nicht.

Das vom RES aus dem Blut eliminierte Polyphosphat wird vermutlich zunächst nur an die Zellen adsorbiert und kann durch Polyvinylpyrrolidon verdrängt werden.

Nach Ausschaltung der Milz verändert sich die RES-Clearance nicht. Der Ausfall wird durch die Leber kompensiert.

Nach Ausschaltung der Leber und Milz sinkt die Clearance auf einen unerheblichen Restbetrag ab. Die Bedeutung des Capillarkreislaufs der Leber für die Elimination blutfremder Stoffe wird diskutiert.

Die Vergiftung des Leberparenchyms mit Tetrachlorkohlenstoff beeinträchtigt die RES-Clearance nur unwesentlich.

Literatur.

[1] Frimmer, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 91 (1953). — [2] Götte, H.: Z. Naturforsch. **8b**, 173 (1953). — [3] Frimmer, M., u. H. Götte: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 319 (1953).

Dr. Max Frimmer, Max Planck-Institut für Chemie, Mainz, Saarstr. 23.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 320—326 (1953).

Aus dem Max Planck-Institut für Chemie Mainz
(Chemische Abt.: Prof. Dr. STRASSMANN).

Über das Verhalten der reticulo-endothelialen Clearance nach Infusion kolloider Blutersatzflüssigkeiten.

III. Mitteilung.

Von
M. FRIMMER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Dezember 1952.)

Neben Bluttransfusion und Plasmainfusion spielen seit einigen Jahren kolloide Plasmaersatzflüssigkeiten bei der Kollapstherapie eine Rolle. Das Kriterium der Wirksamkeit ist das Vermögen des betreffenden Kolloids, die infundierte Wassermenge in der Blutbahn festzuhalten. sowie die Verweildauer des Kolloids im Kreislauf. Eine Reihe von natürlichen und synthetischen Produkten erfüllen diese Bedingungen. Nur wenige jedoch sind klinisch brauchbar. Viele blut- und körperfremde Kolloide verursachen Nierenschädigungen oder Speicherkrankheiten. Eine Speicherung ist immer dann zu erwarten, wenn auf Grund der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Kolloids eine renale Elimination nicht möglich ist und der Organismus nach extrarenaler Elimination aus dem Blute nicht über Fermente zum Abbau der Fremdkörper verfügt. Auch artfremde Eiweißkörper (desantigenisierte Proteine) können, selbst wenn sie abgebaut werden, zu mannigfaltigen Organschädigungen führen[1-2]. Als Kriterium für die Verträglichkeit muß in der Regel die histologische Untersuchung herangezogen werden. Da diese nur eine Phase des Ablaufs wiedergibt, ist man bei sorgfältigen Studien gezwungen, ganze Tierserien in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion histologisch zu untersuchen[1]. Es ist bekannt, daß die meisten körperfremden Kolloide wenigstens zunächst vom RES aufgenommen werden. In späteren Phasen spielen wahrscheinlich auch die Parenchymzellen eine gewisse Rolle[1, 3].

Es erscheint wünschenswert, den Funktionszustand des RES in Abhängigkeit von der Zeit nach der Infusion des Blutersatzmittels jeweils am selben Versuchstier testen zu können. In zwei vorangegangenen Mitteilungen[4-5] wurde eine Methode beschrieben, welche eine Beurteilung des Adsorptionsvermögens des RES für Fremdkolloide erlaubt. Es war unter anderem gezeigt worden, daß die Blockade des RES mit

Tusche in Abhängigkeit von der injizierten Tuschemenge zu einer Verlängerung der Eliminationshalbwertzeit (EHZ) von mit ^{32}P markiertem Kalium-Natrium-Polyphosphat (PP) führt. Wenn also bei den zu untersuchenden Blutersatzflüssigkeiten eine Blockade des RES eintritt, müßte dies folgerichtig im RES-Clearancetest zu einer signifikanten Verlängerung der EHZ führen. Als Beispiele wurden gewählt: Die Bluttransfusion und die Infusion von arteigenem Plasma, von artfremdem Serum (menschliche Serumtrockenkonserve), von desantigenisiertem artfremden Serum (Adaequan)*, von Dextran (Onkotin)** und von Polyvinylpyrrolidon (Periston)***.

Methodik.

Alle Versuche wurden gemäß den in der II. Mitteilung niedergelegten Erfahrungen an nicht narkotisierten Hunden durchgeführt[4]. Injektionen und Punktionen erfolgten an der Vena saphena parva. Es wurden bei jedem Test gewichtsmäßig gleiche Mengen injiziert und in der Regel 6 Blutentnahmen von je 1 ml in Abstand von 2 min durchgeführt. Diese sechs Meßpunkte erlauben eine ausreichend genaue Festlegung der EHZ. Zuweilen vorkommende Unregelmäßigkeiten, die entweder auf Meßfehler oder plötzliche Kreislaufveränderungen bei den Versuchstieren zurückzuführen sind, und eine exakte Definition der Geschwindigkeit der Elimination nicht erlauben, führten zur Ausschaltung des betreffenden Versuchs als Test. Ebenso wurden besonders aufgeregte Versuchstiere, bei denen eine Konstanz des Clearancewertes nicht zu erreichen war, ausgeschieden. Der Clearance-Leerwert wurde jeweils an zwei verschiedenen Tagen auf seine Konstanz geprüft. Erst dann erfolgte die Infusion des zu testenden Blutersatzmittels. Um vergleichbare Verhältnisse zu erhalten, wurde die Menge des injizierten Blutersatzmittels in bezug auf die mutmaßliche Blutmenge dem Körpergewicht der Versuchstiere angepaßt. Bezüglich Darstellung und Messung der PP-Präparate sei auf die vorangegangene Mitteilung verwiesen[4, 6].

Ergebnisse und Diskussion.

In Abb. 1 ist am Beispiel des Adäquans gezeigt, wie sich die EHZ für PP in den Tagen nach der Infusion des Plasmaersatzmittels ändert. Da der Verlauf der Konzentrationszeitkurve durch die EHZ definiert ist, wurde später für jeden einzelnen Test nur die resultierende EHZ angegeben. In den Abb. 2—4 sind sämtliche Versuche graphisch dargestellt, wobei die EHZ in Prozentwerten gegen die Zeit nach der Infusion des Kolloids aufgetragen ist. Im einzelnen verhalten sich die Blutersatzmittel bezüglich der RES-Clearance wie folgt:

1. Die Infusion von arteigenem Plasma wurde als Kontrollversuch durchgeführt (Abb. 2). Wie zu erwarten, tritt keine Blockade des RES ein und die PP-Clearance ändert sich nicht.

2. Nach Bluttransfusionen kommt es zu einer geringfügigen Zunahme der EHZ. Berücksichtigt man, daß bei jeder Transfusion mit der

* Resorba, Nürnberg.
** Braun, Melsungen.
*** Bayer, Leverkusen.

Zerstörung cellulärer Anteile des übertragenen Blutes zu rechnen ist, so ergibt sich, daß diese Zellen oder Zellbestandteile vom RES abgefangen werden und zu einer geringfügigen Blockade desselben führen.

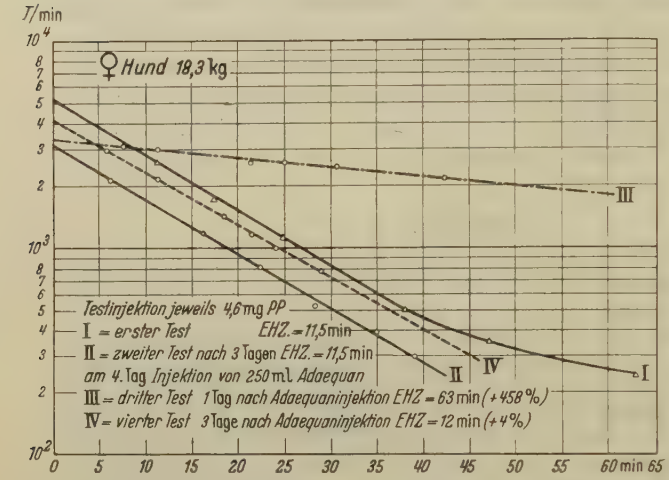


Abb. 1. Verhalten der PP-Elimination vor und nach Infus. von artfremdem, desantigenisiertem Serum (Adaequan).

3. Die bekannte Tatsache, daß intravenös verabfolgtes artfremdes Serumeiweiß innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit aus der Blutbahn eliminiert wird, findet in der erheblichen Zunahme der EHZ im PP-Clearancetest ihre Bestätigung. Die Dauer dieser Blockade entspricht etwa derjenigen Zeit, nach der das injizierte artfremde Protein erfahrungsgemäß als Harnstoff-N im Bilanzversuch wieder ausgeschieden ist.

4. Desantigenisiertes artfremdes Rinderserum (Adäquan) führt unter den bisher untersuchten Plasmaersatzmitteln zur weitaus stärksten RES-

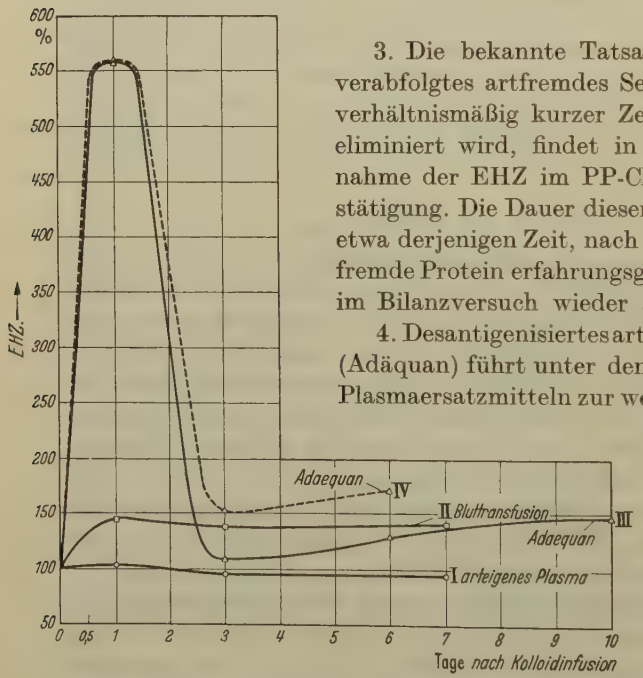


Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der EHZ-Werte nach Infusion von arteigenem Plasma, arteigenem Blut und Adaequan.

Blockade (Abb. 1 u. 2). Dieser Befund ist in Bezugnahme auf die vorliegenden biochemischen und morphologischen Untersuchungen[7, 2] nicht

besonders verwunderlich. Das Präparat ist makroskopisch als getrübt anzusehen und enthält nach Ultrazentrifugenuntersuchungen eine Fraktion von sehr hohem Molekulargewicht. Vermutlich handelt es sich um Molekülkonglomerate, die natürlich vom RES sofort abgefangen werden. Erstaunlich ist jedoch, daß die Blockade des RES schon nach relativ kurzer Zeit wieder verschwindet. Da nach den vorliegenden biochemischen Untersuchungen[7] mit einem so schnellen fermentativen Abbau kaum gerechnet werden kann, muß wohl mit einer

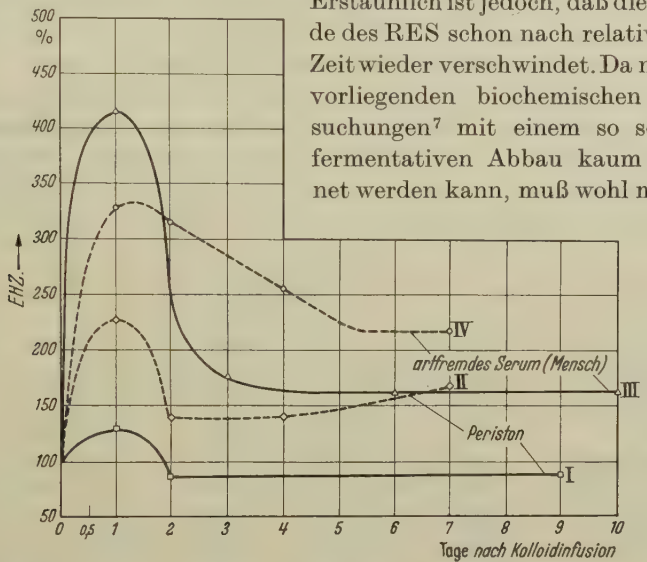


Abb. 3. Zeitlicher Verlauf der EHZ-Werte nach Infusion von Periston und artfremdem Serum.

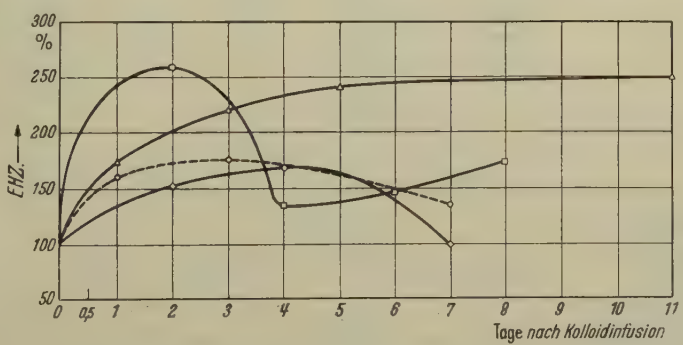


Abb. 4. Zeitlicher Verlauf der EHZ-Werte nach Injektion von Dextran bei vier verschiedenen Versuchstieren.

Weitergabe des adsorbierten Materials an die Parenchymzellen gerechnet werden. Dafür sprechen auch die histologischen Befunde. Man kann sich kaum vorstellen, daß nach einer so ausgedehnten Blockade des RES letzteres noch seiner physiologischen Aufgabe, der Fremdkörperadsorption, nachzukommen imstande ist.

5. Die durch Periston verursachte Blockade ist meist verhältnismäßig geringfügig. Die Ergebnisse aus einem größeren Versuchsmaterial sind einheitlich in bezug auf eine fast immer verhältnismäßig niedrige Initialzacke. Nach etwa einer Woche kommt es nicht selten zu einem allmählichen Wiederanstieg der EHZ, der quantitativ zuweilen die Höhe der Initialzacke übersteigen kann. Ein ähnliches Verhalten der EHZ-Kurven beobachtet man gelegentlich auch nach Infusion von Dextran.

6. Die durch das Polysaccharid Dextran (Onkotin) hervorgerufene Clearanceveränderung (Abb. 4) zeigt insofern eine Besonderheit, als nämlich das Maximum der Blockade zeitlich nicht am 1. Tag nach der Injektion liegt, sondern später. Dies ist mit der Tatsache in Einklang zu bringen, daß man Dextran noch einige Tage nach der Infusion im

Tabelle 1.

	ml	kg	Leerversuch EHZ = 100%		Mittel	1 * EHZ %
Plasmainfusion	168	11,8	17,0	17,5	17,25	17,53 + 3
Artfremdes Serum	170	13,1	13,5	13,0	13,25	55,0 + 315
(Mensch)	96	7,8	17,75	16,5	17,12	56,7 + 221
Desantigenisiertes	250	18,3	11,5	11,5	11,5	63,0 + 448
artfremdes Serum	234	19,2	7,25	8,00	7,63	42,75 + 460
Bluttransfusion	258	20,3	7,5	8,25	7,9	11,5 + 46
Periston	197	15,5	11,0	13,0	12,0	27,5 + 129
	170	11,6	19,5	16,0	17,7	22,7 + 29
Dextran	150	11,7	10,5	12,25	11,3	19,5 + 74
	277	21,7	9,75	9,25	9,5	15,25 + 60
	280	22,0	11,5	11,5	11,5	— —
	130	10,8	16,5	16,7	16,5	— —

Tabelle 2.

	2 EHZ %		3 EHZ %		4 EHZ %		5 * EHZ %	
Plasmainfusion	—	—	16,75	— 3	—	—	—	—
Artfremdes Serum	—	—	23,75	+ 80	—	—	—	—
(Mensch)	52,5	+ 207	—	—	42,75	+ 150	—	—
Desantigenisiertes	—	—	12,0	+ 4	—	—	—	—
artfremdes Serum	—	—	11,75	+ 54	—	—	—	—
Bluttransfusion	—	—	11,0	+ 39	—	—	—	—
Periston	16,7	+ 39	—	—	17,0	+ 42	—	—
	15,0	— 15	—	—	—	—	—	—
Dextran	—	—	25,0	+ 120	—	—	27,2	+ 142
	—	—	16,7	+ 75	—	—	—	—
	30	+ 162	—	—	15,2	+ 32	—	—
	25	+ 52	—	—	27,75	+ 68	—	—

*) Tage nach Kolloidinfusion.

strömenden Blut aufgefunden hat[8]. Soweit die Elimination durch das RES erfolgt (Dextran wird wie Periston zum Teil renal ausgeschieden), kann sie also ihr Maximum am 1. Tag nicht erreichen.

Tabelle 3.

	6 EHZ %	7 EHZ%	8 EHZ %	9 * EHZ %
Plasmainfusion	— —	16,5 — 5	— —	— —
Artfremdes Serum	21,5 + 62	— —	— —	— —
(Mensch)	— —	37,0 + 116	— —	— —
Desantigenisiertes	15,0 + 30	— —	— —	— —
artfremdes Serum	13,25 + 74	— —	— —	— —
Bluttransfusion	— —	11,25 + 42	— —	— —
Periston	— —	19,7 + 65	— —	— —
	— —	— —	— —	14.7 — 17
Dextran	— —	— —	— —	— —
	— —	12,7 + 34	— —	— —
	17,0 + 48	— —	— —	— —
	— —	16,0 — 3	— —	— —

Tabelle 4.

	10 EHZ %	11 EHZ %	12 EHZ %	13 * EHZ %
Plasmainfusion	— —	— —	— —	— —
Artfremdes Serum	21,5 + 62	— —	— —	— —
(Mensch)	— —	— —	— —	— —
Desantigenisiertes	17,25 + 50	— —	— —	19,5 + 70
artfremdes Serum	— —	— —	— —	— —
Bluttransfusion	— —	— —	— —	— —
Periston	— —	— —	— —	— —
	— —	— —	— —	— —
Dextran	— —	28,2 + 150	— —	— —
	— —	— —	— —	— —
	20,0 + 74	— —	— —	— —
	— —	— —	— —	— —

*) Tage nach Kolloidinfusion.

Während die Kurvenform der prozentualen Clearanceverlängerung und das Ausmaß der Blockade bei den übrigen getesteten Blutersatzmitteln in der Regel gut übereinstimmen, verhalten sich die Tiere offensichtlich *nach der Injektion von Dextran* quantitativ und qualitativ unterschiedlich. Es kann nach den bisherigen Versuchen nicht entschieden werden, ob diese Tatsachen mit dem unterschiedlichen Verhalten der einzelnen Tiere in bezug auf renale Elimination und fermentativen Abbau des Polysaccharids zu erklären sind, oder ob man sie auf mangelnde chemische Identität einzelner Herstellungschargen zurückführen muß. Der auch nach Dextraninfusion zuweilen beobachte Wiederanstieg der EHZ in der zweiten Woche (s. auch Periston) läßt mehrere Möglichkeiten einer Deutung zu. Vielleicht werden bei

manchen Tieren erst zu diesem Zeitpunkt die letzten Reste des Fremdkolloids eliminiert. Andrerseits muß immerhin an die Möglichkeit einer Spätreaktion im RES im Sinne einer Änderung der elektrischen Ladung gedacht werden. Es ist dabei zu berücksichtigen, daß die Empfindlichkeit des RES-Clearancetestes weit größer ist, als die der bislang verwendeten histologischen Methode.

Die vorliegenden Untersuchungen sollen kein Werturteil über die getesteten Plasmaersatzmittel darstellen. Ihr Zweck ist der Hinweis auf einen neuen Gesichtspunkt bei der toxikologischen Beurteilung einer intravenösen Verabfolgung von körper- oder artfremden Kolloiden. Bei der Beurteilung der sogenannten Blutersatzmittel sollte nicht allein der klinische Aspekt, der sich vorwiegend aus hämodynamischen Erwägungen herleitet, entscheidend sein, sondern auch die Funktionsfähigkeit des retikuloendothelialen Systems.

Zusammenfassung.

Mit einem Clearencetest wird der Grad der RES-Blockade nach Infusion verschiedener Plasmaersatzmittel in Abhängigkeit von der Zeit nach deren Applikation gemessen. Die Befunde bei den einzelnen getesteten Substanzen werden unter Bezugnahme auf bisher bekannte Tatsachen interpretiert.

Literatur.

[1] Frimmer, M., K. Lang u. Th. Peters: Z. exper. Med. **116**, 279 (1950). — [2] Schenk, Klin. Wschr. **31**, 329 (1953). — [3] Peters, Th., u. M. Frimmer: Morpholog. Jahrbuch **91**, 273 (1951). — [4] Frimmer, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 91 (1953). — [5] Frimmer, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 313 (1953). — [6] Götte, H., u. M. Frimmer: Angew. Chem. **65**, 52 (1953). — [7] Siebert, G.: Klin. Wschr. **30**, 900 (1952). — [8] Heller, L., u. K. Koch: Melsunger Med. Pharmaz. Mitt., Heft 80 (Firma Braun, Melsungen).

Dr. M. Frimmer, Max Planck-Institut für Chemie, Mainz, Saarstr. 23,

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 327—334 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Versuche zur Gewöhnung an Gifte mit dem Pilz Neurospora crassa.

Von
K. Bartmann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 13. Dezember 1952.)

Die Fähigkeit der Mikroorganismen, ihre Widerstandsfähigkeit gegen Gifte zu steigern, wenn sie in gifthaltigem Medium gezüchtet werden, und diese erhöhte Resistenz auch bei weiteren Passagen auf giftfreien Nährböden zu bewahren, ist schon lange bekannt (Übersichten bei Hausmann, Bucher u. Doerr, Christensen u. Daly). Ebenso lange währt die wegen ihrer allgemeinen biologischen Bedeutung oft heftig geführte Diskussion über die genetischen Grundlagen dieser neu auftretenden, vererblichen Eigenschaft. In der umfangreichen Literatur über die ganze Frage finden sich aber bisher nur 2 genetische Analysen bei Bakterien — mit Hilfe des neben einfacher Teilung geschlechtliche Reproduktion zeigenden Stammes K 12 von Esch. Coli (Cavalli u. Mitarb., Newcombe u. Mitarb.) — und eine derartige Untersuchung bei dem Ascomycet Neurospora crassa. Emerson u. Cushing wiesen nach, daß Neurospora eine Zunahme der Resistenz gegenüber Sulfonamiden entwickeln kann, die sowohl durch Mutation und anschließende Selektion als auch ohne Veränderung der Gene als Adaptation zustande kam. Da die Gewöhnung an Gifte bei niederen Pilzen bisher nur vereinzelt studiert wurde, und da sich Neurospora als haploider Organismus für genetische Untersuchungen besonders eignet, war es unsere Absicht, bei diesem Pilz das Verhalten gegen chronische Giftzufuhr in breiterem Umfange zu untersuchen und eine etwa auftretende Resistenz genetisch zu analysieren.

I. Versuche zur Steigerung der Giftfestigkeit durch Passagen auf gifthaltigen Nährböden.

Neurospora ist gegen die gebräuchlichen Antibiotika unempfindlich. Daher mußten andere Hemmstoffe benutzt werden; es waren Sulfanilamid, das Natriumsalz der p-Chlorbenzoesäure, Natriumbenzoat, Borsäure, Dinitrophenol und Sublimat.

Methodik: Der Grad der Wachstumshemmung wurde gemessen 1. durch die mikroskopische Bestimmung der prozentualen Keimung von Conidien in gifthaltigem Agarmedium und/oder 2. durch Messung der Wachstumsgeschwindigkeit von Mycel auf gifthaltigem Nähragar in sogenannten Wachstumsröhrchen nach der Methode von Ryan, Beadle und Tatum. Dabei wird die Front des auf dem Agar vorwärtswachsenden Mycels an der Glaswand der 45 cm langen Röhrchen von etwa 1 cm Durchmesser in gewissen Zeitabständen markiert. Als Nähragar wurde ein Minimal-Medium benutzt, das aus Glucose oder Glycerin, anorganischen Salzen, Spurenelementen und Biotin besteht, und außerdem ein Komplett-Medium, das außer den genannten Substanzen noch Hefe- und Malzextrakt, Nucleinsäure, Caseinhydrolysat und eine Vitaminmischung enthält. Benutzt wurden die Stämme 7A und 8a.

1. Versuche auf Agarnährböden.

a) *Mit Mycel.* Mycel wuchs in Petri-Schalen von 20 cm Durchmesser mit gifthaltigem Komplett- bzw. Minimal-Medium und wurde dann in Form von herausgeschnittenen Agarblöcken auf Medium mit der gleichen oder einer höheren Giftkonzentration übertragen. Die Giftkonzentration war zu Beginn so gering, daß das Wachstum kaum behindert war. Sie wurde bei einer Passage höchstens auf das Doppelte gesteigert; in einer Reihe von Versuchen wurde sie stufenweise nach je 3 Passagen erhöht. Von Zeit zu Zeit wurde auf Schrägagarröhrchen mit einer geringeren Giftkonzentration abgeimpft und nach 7 Tagen die Keimungsrate der Sporen wie oben angegeben bestimmt.

Bei allen Substanzen bot sich das gleiche Bild: Im Laufe der Passagen nahm die Lebensfähigkeit und Keimungsgeschwindigkeit der Sporen immer mehr ab. Auch bei Prüfung der Wachstumsgeschwindigkeit von Mycel in Wachstumsröhrchen nahm die Giftfestigkeit nicht zu. Tab. 1 gibt einen Ausschnitt aus dieser Versuchsreihe.

Tab. 1. *Hemmung der Wachstumsgeschwindigkeit von Mycel nach mehreren Passagen im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen.*

Substanz	Passage		Hemmstoffkonzentr.	Hemmung der Wachstumsgeschwindigkeit in %	
	Nr.	Konzentr.		unbehandelt	vorbehandelt
p-Chlorbenzoesäure	3	0,02 %	0,02 %	28,0	28,0
	6	0,03 %	0,03 %	42,0	40,5
	9	0,05 %	0,03 %	43,0	46,5
Borsäure	3	0,05 %	0,05 %	51,5	54,0
	6	0.075%	0,05 %	46,0	29,5
	9	0,1 %	0,05 %	40,0	55,0
			0,075%	64,0	79,0
Sulfanilamid	4	0,32 %	0,064%	15,0	67,0
			0,16 %	18,5	100,0
	12	0,04 %	0,04 %	8,5	28,0
			0,064%	23,0	28,0
			0,16 %	31,5	28.5
	12	0,016%	0,04 %	8,5	8,5
			0,064%	13,0	11,5
			0,16 %	31,5	43,0

b) *Mit Sporen.* Da jede Passage mit einer Verletzung des Mycels beim Ausschneiden der Agarblöcke verbunden war und diese Verletzung möglicherweise eine Anpassung unterband, führte ich mit p-Chlorbenzoesäure und Sulfanilamid Versuche durch, bei denen unversehrte Zellen als Inoculum dienten. Conidien, die am Ende eines Wachstumsröhrchens gebildet waren, wurden abgeschwemmt und mit einer Öse auf Wachstumsröhrchen übertragen. Auch mit dieser Anordnung ließ sich keine Resistenzsteigerung erzielen.

2. Versuche mit flüssigen Kulturen.

Wegen dieser negativen Resultate wiederholte ich die Versuche außer mit den bisher verwandten Stämmen auch noch mit dem von Emerson benutzten Stamm E 5297a, und zwar mit derselben Versuchsanordnung wie er, d. h. mit Vorpassagen im flüssigen Medium, dem

Tab. 2. *Beeinflussung der Wachstumsgeschwindigkeit von Mycel durch 3 Vorpassagen in flüssigem Medium mit 0,1 g% Sulfanilamid bzw. 0,05—0,10 g% Borsäure. Spalte 1 = Vorpassagen mit Hemmstoff, Spalte 2 = ohne Hemmstoff.*

Stamm	Hemmstoffkonz. in g%		Wachstumsgeschwindigkeit in % der Kontrolle			
			Borsäure		Sulfanilamid	
	Borsäure	Sulfanilamid	1	2	1	2
7A	0,05	0,08	74,0	100,0	100,0	100,0
	0,075	0,16	36,0	27,5	36,5	32,5
	0,10	0,32	10,5	0,0	25,0	0,0
8a	0,05	0,08	55,0	53,5	82,5	60,0
	0,075	0,16	27,5	23,0	69,5	80,0
	0,10	0,32	0,0	16,0	4,5	20,0
E 5297a	0,05	0,08	100,0	133,0	51,5	91,5
1. Versuchs-Reihe	0,075	0,16	62,5	105,0	34,5	74,5
	0,10		50,0	100,0		
E 5297a	0,05		98,0			
fragl. resistente	0,075		87,0			
Variante aus	0,10		55,5			
1. Versuchsreihe						
E 5297a	0,05	0,08	87,0	88,5	100,0	100,0
2. Versuchsreihe	0,075	0,16	89,0	77,5	84,5	43,5
	0,10	0,32	81,5	57,0—0,25	84,5	43,5

Sulfanilamid oder Borsäure in steigender Konzentration zugesetzt war. Aus der Pilzdecke wurde etwas Mycel mit der Öse abgetrennt und dann auf Wachstumsröhrchen übertragen. Tab. 2 zeigt, daß auch unter diesen Bedingungen keine erhöhte Endgeschwindigkeit des Wachstums durch die Vorbehandlung zu erreichen war, wenn es auch in einzelnen Versuchen erst so schien. Die Variabilität der Ergebnisse ist darauf zurück-

zuführen, daß bei höheren Giftkonzentrationen die Wachstumsgeschwindigkeit nicht, wie es sonst der Fall ist, konstant wird, sondern beträchtlichen Schwankungen unterliegt. Man gewinnt zwar den Eindruck, daß in der Mehrzahl der Versuchsansätze der Emerson-Stamm relativ unempfindlicher als die beiden anderen Stämme ist, die Schwankungen der Ergebnisse sind von Versuch zu Versuch jedoch so groß, daß dadurch eine genetische Analyse praktisch unmöglich gemacht wird, wie z. B. die Hemmwerte für 0,16 g% Sulfanilamid aus der ersten und zweiten Versuchsreihe mit E 5297a zeigen.

II. Versuche zur Auffindung giftresistenter Sporen.

In diesen Versuchen sollte festgestellt werden, ob unter großen Populationen von Einzelzellen einzelne resistentere anzutreffen sind.

1. Prüfung von Makroconidien.

Methodik. Ich benutzte Conidien der Stämme 7A und 8a, die 7 Tage alten Kulturen entstammten und nach fremden wie eigenen Beobachtungen fast zu 100% lebensfähig sind. Die Sporen wurden mit Wasser von Schrägagarröhrchen abgeschwemmt und von Mycelresten durch Watte steril abfiltriert. Die Zellkonzentration der homogenen Suspension wurde in der Zählkammer bestimmt und dem Ergebnis entsprechend stets auf einen bestimmten Zellgehalt eingestellt. Dann wurde je 1 ml Suspension zu 9 ml gifthaltigen Nähragars gegeben, in Petri-Schalen ausgegossen und 7 Tage lang bei 30° C bebrütet. Die Konzentration der geprüften Hemmstoffe war so bemessen, daß die Keimung nur stark verzögert oder eben unterdrückt wurde.

Auf diese Weise wurden im Minimal-Medium für jede Substanz 1×10^{10}, für Sublimat 1×10^{11} Sporen geprüft; in Komplett-Medium nochmals je 4×10^{9}. In einigen Versuchen wuchsen vereinzelt Kolonien aus. Ihr Luftmycel wurde auf Schrägagarröhrchen überimpft, deren Conidien dann mit der gleichen Versuchsanordnung geprüft wurden. Sie erwiesen sich jedoch nicht resistenter als die Anfangskulturen.

Darüber hinaus versuchte ich, durch UV-Bestrahlung der Sporen mit einer Halbwertdosis, d. h. einer Dosis, die 50% der Zellen inaktiviert und zu einer erheblichen Steigerung der absoluten Mutationsrate hätte führen müssen, resistente Mutanten zu erzeugen. Nach der Bestrahlung mit dem Gesamtspektrum einer Quecksilber-Hochdrucklampe wurden die Sporen dem gifthaltigen Minimal- oder Komplett-Medium zugesetzt und anschließend in Petri-Schalen bebrütet. Auch unter diesen Bedingungen wurden keine resistenten Zellen gefunden. Die Bestrahlungsversuche habe ich jedoch nicht in einem solchen Umfange durchgeführt, daß man aus ihnen den Schluß ziehen dürfte, es sei überhaupt nicht möglich, auf diesem Wege resistente Mutanten zu erzielen.

2. Prüfung von Mikroconidien.

Der Wildtyp bildet sogenannte Makroconidien, Sporen, die mehrkernig sind und einen Durchmesser von 7 μ besitzen. Mutiert einer der Kerne, wird die genetische Zusammensetzung der Zelle heterogen, es

entsteht ein Heterocaryon. Obwohl die einzelnen Kerne haploid sind, treten durch Heterocaryosis Verhältnisse ein, die der Dominanz bzw. Recessivität diploider Organismen entsprechen. Da sich die biochemischen Defektmutanten von Neurospora, soweit sie bisher darauf untersucht wurden, im Heterocaryon recessiv verhielten, war daran zu denken, daß auch Mutationen zur Giftresistenz recessiv sein könnten und aus diesem Grunde bei den Makroconidien nicht manifest würden. 1949 wurde von Barrat u. Garnjobst eine Neurospora-Mutante isoliert, die einkernige Mikroconidien (Durchmesser etwa 3 μ) bildet und außerdem ein Gen trägt, das die Makroconidien-Bildung unterdrückt. Ich erhielt von Barrat eine Kultur, die, wie angegeben, 99% einkernige

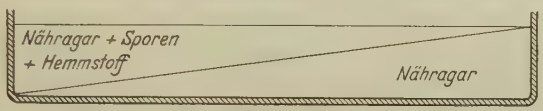


Abb. 1.

Conidien bildet. Für die Prüfung der Mikroconidien benutzte ich eine Versuchsanordnung von Szybalski, die es gestattet, die Sporen nicht einer festen Konzentration, sondern einem Konzentrationsgefälle auszusetzen, wie es die obenstehende Abbildung 1 zeigt. Benutzt wurden

Tab. 3. *Zahl der Mikroconidien, die mit verschiedenen Hemmstoffen verschiedener Konzentration geprüft wurden.*

Substanz	Höchste Hemmkonzentration	Zahl der Sporen
Borsäure	0,1 %	$2{,}9\times10^9$
	0,2 %	$1{,}2\times10^{10}$
Sulfanilamid	0,16%	$5{,}95\times10^9$
	0,16%	$4{,}1\times10^9$
	0,08%	$4{,}0\times10^9$
Natriumbenzoat	0,2 %	$1{,}2\times10^{10}$
p-Chlorbenzoesäure . . .	0,01%	$6{,}1\times10^9$
	0,05%	$5{,}9\times10^9$
Sublimat	2 mg%	$5{,}85\times10^9$
Dinitrophenol.	10 mg%	$4{,}56\times10^9$
	20 mg%	$6{,}1\times10^9$

Petrischalen von 20 cm Durchmesser. Tab. 3 gibt die Zahl der untersuchten Conidien und die höchste Hemmkonzentration an. Im Bereich der schwächsten Konzentration trat meist eine dichte Keimung ein; um eine Überwachsung der gesamten Platte zu verhindern, wurde dieser

Teil herausgeschnitten, wenn die Keimung makroskopisch sichtbar wurde. Auf dem Rest der Platte wuchsen einige Kolonien aus, die abgeimpft und erneut geprüft wurden. Diese Unterkulturen bildeten dann Makroconidien. Die Makroconidienbildung ist bei der benutzten Mutante extrem selten, wird jedoch nicht restlos unterdrückt. So wurden die wenigen, aber stets vorhandenen Makroconidien selektioniert. Ihr selektiver Vorteil ist erheblich. Makroconidien sind bei 25° C nach 7 Std zu über 90% gekeimt, Mikroconidien nach 30 Std erst zu 70%; in dieser Zeit haben die Makroconidien bereits ein kreisförmiges Mycel von etwa 14 cm Durchmesser gebildet.

Aus sämtlichen Versuchen ergibt sich, daß das Auftreten giftfester Mutanten bei Neurospora sehr selten ist. Da durch die Rekombinationsversuche mit dem K 12-Stamm von Esch. Coli gezeigt worden ist, daß die Resistenz gegen Streptomycin und Chloromycetin eine gengesteuerte Eigenschaft ist, und da keine großen Unterschiede zwischen den biochemischen Mutationen bei Bakterien und Neurospora bestehen, ist auch nicht anzunehmen, daß Mutationen zur Resistenz gegen Gifte bei Neurospora nicht eintreten sollten. Man muß sich vielmehr fragen, welche besonderen Gründe die Manifestation derartiger Mutationen verhindern. Die experimentelle Prüfung dieser Frage hätte aber den Rahmen der vorliegenden Arbeit gesprengt. Wie mir Prof. Westergaard mündlich mitteilte, haben Emerson und auch Zalokar in den letzten Jahren wiederholt ohne Erfolg versucht, nochmals eine Sulfonamidresistente Neurospora-Mutante zu isolieren.

III. Versuche über die mutationsauslösende Wirkung der untersuchten Substanzen.

Die mutagene Wirkung der benutzten Hemmstoffe prüfte ich mit der von Westergaard ausgearbeiteten Methode, die die Beeinflussung der Rückmutationsrate einer biochemischen Defektmutante zum Wildtyp benutzt. Als Mutanten dienten 2 inositbedürftige Stämme, 37102a und 37401A, die sich nach den Untersuchungen von Giles lediglich in ihrer Mutabilität voneinander unterscheiden.

Methodik. Die Sporen von 4—5 Tage alten Kulturen wurden abgeschwemmt, zur Abtrennung von Mycelresten steril durch Watte filtriert, mehrmals mit Aqua dest. gewaschen, in einer gifthaltigen wäßrigen, evtl. gepufferten Lösung aufgeschwemmt und für eine bestimmte Zeit bei 25° C auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Danach wurde abzentrifugiert, wieder mehrmals gewaschen und schließlich in Minimalagar-Medium ausgeplattet. Ebenso wurde eine Kontrolle behandelt, die nur in Wasser bzw. in Puffer geschüttelt wurde. In dem Minimal-Medium wachsen die zum Wildtyp zurückmutierten Sporen zu Kolonien aus, während die inositbedürftigen Conidien nur Keimschläuche austrieben, soweit sie nicht durch die Behandlung abgetötet wurden. Die Überlebensrate läßt sich daher durch mikroskopische Auszählung der gekeimten Sporen bestimmen, die ausgewachsenen Kolonien werden als Rückmutation gewertet, gegebenenfalls noch durch die genetische

Analyse als solche sichergestellt. Einwirkungszeiten und Konzentrationen wählte ich so, daß die Überlebensrate nach Möglichkeit bei 50% und 1% lag. Diese Bedingungen erreichte ich mit Borsäure und Sulfanilamid nicht, weil die fungizide Wirkung selbst hoher Konzentrationen bei einer Einwirkungsdauer von 48 Std zu schwach ist.

Eine Auswahl der Versuche mit den beiden Mutanten ist in Tab. 4 zusammengestellt. Sie zeigt, daß es mit keiner der verwandten Substanzen unter den benutzten Bedingungen möglich war, die absolute Mutationsrate zu steigern. In einigen Versuchen nimmt die relative

Tab. 4. *Beeinflussung der Mutationsrate durch die verschiedenen Hemmstoffe bei zwei Inosit-Mutanten.*

Stamm	Substanz	Konzentr. in %	Einwirkungszeit i. Std	*Kontrolle*		*behandelt*	
				Keimung in %	Rückmutationen $\times 5 \times 10^{-8}$	Keimung in %	Rückmutationen $\times 5 \times 10^{-8}$
37401 A	Dinitrophenol	200 mg	3	100	1,0	65	0
		500 mg	3	100	1,0	1,0	0
37401 A	Natrium-	5 g	4	94	1,5	78	0
	benzoat	10 g	4	94	1,5	23	0
37401 A	Borsäure	2,5 g	48	93	2,0	88	2,0
37102a	Sulfanilamid	0,8 g	3	97	1,0	95	3,0
37401 A	p-Chlorbenzoe-	2,5 g	2	97	3,0	90	1,5
	säure	5 g	2	97	3,0	72	1,5
		10 g	2	97	3,0	0,5	1,5
37401 A	Sublimat	1,65 mg	1	97	43,0	98,0	27,5
		3,3 mg	1	97	43,0	19,0	1,6
		3,3 mg	3	98	3,1	2,75	2,1
		20 mg	3	98	3,1	0,75	2,1

Mutationsrate, d. h. die Zahl der Rückmutationen im Verhältnis zu der Zahl der überlebenden Sporen, zu. Da jedoch eine Zunahme der relativen Mutationsrate durch Selektion der rückmutierten, vitaleren Sporen vorgetäuscht werden kann, ist diese Größe nicht, wie die absolute Mutationsrate, ein sicheres Maß der mutagenen Wirkung. Das bedeutet, daß allen geprüften Substanzen keine eindeutige mutagene Wirkung zukommt.

Zusammenfassung.

In ausgedehnten Versuchen konnte die Giftfestigkeit von Neurospora crassa gegen Sulfanilamid, p-Chlorbenzoesäure, Benzoesäure, Borsäure, Dinitrophenol und Sublimat nicht erhöht werden. Bei einem

Mikroconidien bildenden, einkernigen Stamm wurde lediglich eine Selektion der wenigen, stets auftretenden, vitaleren, mehrkernigen Makroconidien beobachtet.

Im Rückmutationstest zeigten die benutzten Hemmstoffe keine sichere mutagene Wirkung.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchte ich für die finanzielle Unterstützung der Arbeit meinen Dank aussprechen. Herrn Prof. Westergaard, Genetisches Institut der Universität Kopenhagen, danke ich für eine dreimonatige Aufnahme in seinem Institut. Die verschiedenen Stämme wurden mir liebenswürdigerweise von M. Westergaard, M. B. Houlahan, F. J. Ryan, R. W. Barrat und N. H. Giles überlassen. Frau Ellen Baerwolff bin ich für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche zu Dank verpflichtet.

Literatur.

Barrat, R. W., a. L. Garnjobst: Genetics **34**, 351 (1949). — Bucher, K., u. R. Doerr: Die Gewöhnung an nichtantigene Gifte. Wien 1950. — Cavalli, L. L., u. G. A. Maccacaro: Nature **166**, 991 (1950). — Christensen, J. J., u. J. M. Daly: Amer. Rev. Microbiology **5**, 57 (1951). — Emerson, S., a. J. E. Cushing: Fed. Proc. (Washington) **5**, 379 (1946). — Giles, jr., N. H.: Studies on the mechanism of reversion in biochemical mutants of Neurospora crassa. Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol. XVI, 283. New York (1951). — Hausmann, W.: Erg. Physiol. **6**, 58 (1907). — Kölmark, G., a. M. Westergaard: Hereditas (Lund) **35**, 490 (1949). — Newcombe, H. B., a. M. H. Nyholm: Genetics **35**, 603 (1950). — Ryan, F. J., G. W. Beadle a. E. L. Tatum: Amer. J. Bot. **30**, 784 (1943). — Szybalski, W.: Microbial Genetics Bulletin **5**, 16 (1951).

Dr. K. Bartmann,
Pharmakol. Inst. d. Freien Universität Berlin-Dahlem, Thielallee 69—73.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 335—342 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Versuche zur Dursterzeugung durch Alkohole.

Von

W. Heubner und M. Kramer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Januar 1953.)

I.

Von einer Reihe von Bemühungen um ein Verständnis des Nachdurstes, der nach Aufnahme alkoholischer Getränke auftreten kann, scheinen uns folgende Ergebnisse einer kurzen Mitteilung wert. Ausführlichere Einzelheiten finden sich in der Dissertation von M. Kramer.

Es wurden Versuche an weißen Ratten von 130—140 g, die wochenlang in Stoffwechselkäfigen gehalten wurden, ausgeführt. Das Futter bestand aus 40 g Hafer täglich. Der Urin floß in Meßgefäße ab, doch war nicht zu garantieren, daß ein Teil der ausgeschiedenen Wassermenge verdunstete, besonders, wenn die Sekretion gering war. Zur Wasseraufnahme dienten kleine Saugflaschen, die täglich nachgewogen wurden.

Die Gabe von Alkohol erfolgte in wäßriger Lösung von 20—50% meist durch die Schlundsonde, also in größerer Dosis auf einmal. Außerdem wurde bei Äthylalkohol und Weinbrand an einer Anzahl von Tieren die Zufuhr in der Weise vorgenommen, daß 20 Std lang statt des Trinkwassers 3—9%ige Alkohollösungen angeboten wurden, wobei die Dosierung den einzelnen Tieren überlassen blieb. Wurde solchen Tieren probeweise sowohl Alkohollösung wie Wasser angeboten, so zogen sie durchweg das alkoholfreie Getränk vor.

Kontrollperioden ohne Alkohol ergaben, wie zu erwarten, recht beträchtliche individuelle wie zeitliche Variationen der täglichen Wasseraufnahme. Daher war es nicht immer leicht, zu klaren Schlußfolgerungen zu kommen. An 5 ungebrauchten Tieren wurde an insgesamt 42 Tagen die täglich aufgenommene Wassermenge bestimmt; sie schwankte für die Mittelzahlen der einzelnen Individuen zwischen 9 und 16 cm^3, die mittlere Streuung lag gewöhnlich zwischen 1 und 3 cm^3, ausnahmsweise bei 7 cm^3. Der Gesamtdurchschnitt lag bei 11,5 cm^3. Spätere erneute Messungen des gleichen Jahres bis zu 104 Tagen lagen ebenfalls in diesem Bereich. Im kühlen Herbst eines späteren Jahres ergaben 6 Tiere gleichen Normalgewichts dagegen Zahlen zwischen 7,5 und 9,5 cm^3 bei etwa gleicher Streuung und dem Mittelwert 8.

Bei allen Versuchen wurde im Urin die Stickstoff- und Chloridausscheidung nach bekannten Verfahren (Kjeldahl, Volhard) bestimmt.

II. n-Propylalkohol.

Ein eindeutiges Ergebnis wurde bei der Applikation des normalen Propylalkohols erzielt. Nach ausreichender Kontrollperiode erhielten 3 Tiere (vgl. Tab. 1, Nr. 8, 9, 10) mit 3tägigem Abstand 2,0; 2,5; 3,0 und 3,5 cm^3 n-Propanol je Kg in 20%iger Lösung, 2 weitere nur die 3 ersten (Nr. 1, 11), 1 weiteres nur die beiden ersten dieser Dosen (Nr. 7).

Tab. 1 zeigt die erhaltenen Durchschnittszahlen, wobei die ersten 3 Versuche verschiedener Dosen zusammengefaßt wurden, darunter die mittlere Streuung und wieder darunter den mittleren Fehler des Durchschnittswertes. Es ist — mit Ausnahme des Versuches 11 — unverkennbar, daß in den auf die Sondierung folgenden 24 Std die getrunkene Wassermenge anstieg, um am nächsten Tag wieder abzufallen; offenbar war also vermehrter Durst aufgetreten.

Tabelle 1. *Durchschnittswerte der Trinkmenge im Versuch mit n-Propanol.* (Z. = Versuchszahl.)

Tier	ohne Alk.		24 Std n. So.		48 Std n. So.	
	Z.	cm³	Z.	cm³	Z.	cm³
1	22	9,3	3	14,4	3	9,8
σ		3,0		3,2		0,5
ε		0,6		1,9		0,3
7	16	10,4	2	16,2	2	6,7
σ		3,0		4,2		1,9
ε		0,8		3,0		1,4
8	20	15,1	3	24,5	3	16,6
σ		4,8		3,1		5,0
ε		1,1		1,7		2,9
9	13	16,1	3	23,1	3	15,9
σ		3,5		2,7		2,8
ε		1,0		1,5		1,6
10	15	10,6	3	13,9	3	10,1
σ		1,9		2,7		0,9
ε		0,5		1,6		0,5
11	6	7,4	3	8,2	3	7,8
σ		1,5		2,0		1,5
ε		0,6		0,8		0,9
D		11,7		16,7		11,7

Der letzte Versuch mit der Dosis von 3,5 cm³ je Kg wurde bei der Ermittlung der Durchschnittswerte in der Tabelle und der Kurve nicht berücksichtigt, da daran 2 der Versuchstiere starben und somit veränderte Bedingungen vorlagen.

Abb. 1 zeigt die Steigerung der Wasseraufnahme in Abhängigkeit von den aufeinanderfolgenden Dosen. An den Gipfeln des Durstes zeigte sich eine erhöhte Diurese, die bei der 1. und 3. Dosis mit einer verminderten Chloridausscheidung einherging. Durchschnittlich wurde an den Alkoholtagen fast die doppelte Stickstoffmenge ausgeschieden (80,8 mg gegenüber 43,8 ohne Propanol.) Bei den Dosen von 2,0—3,0 cm³ je Kg hatten

die Tiere keine deutliche Narkose gezeigt. L. Lendle gibt als kleinste narkotische Dosis bei Ratten 1,5 cm³ je Kg, und als L.D. 50 4,0 cm³ je Kg an, allerdings bei intraperitonealer Applikation.

Im ganzen sieht es aus, als ob der vermehrte Durst mit vermehrter Wasser- und Stickstoffausscheidung und einer geringen Zurückhaltung von Kochsalz einherginge.

Die Versuche lehren jedenfalls, daß es grundsätzlich möglich ist, an Ratten Untersuchungen über die Reaktion der spontanen Trinkfreudigkeit (also den Durst) nach bestimmten Eingriffen vorzunehmen.

III. Isopropylalkohol.

In gleicher Weise wie der primäre n-Propylalkohol wurde auch der sekundäre Isopropylalkohol an 6 Ratten nach ausreichender Kontrolle ihrer unbeeinflußten Wasseraufnahme mit der Schlundsonde gegeben, und zwar in 2 Dosen von 2,5 und 3,0 cm³ je Kg, die beim normalen Propanol so deutlich wirksam gewesen waren. Es zeigte sich jedoch keinerlei Einfluß auf die Wasseraufnahme; sie blieb vielmehr überall nahezu dieselbe wie vor der Alkoholzufuhr.

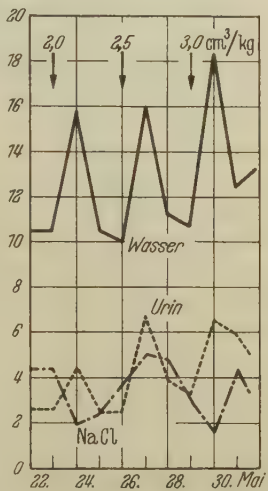


Abb. 1. Durchschnittswerte von 6 Tieren bei verschiedenen Dosen n-Propylalkohol. Ordinate bedeut. ccm od. mg.

Der Unterschied in der Wirkung des normalen und des Isopropylalkohols auf die Trinkmenge könnte seine Ursache in den verschiedenen Abbauwegen dieser beiden Stoffe im tierischen Organismus haben. Der n-Propylalkohol wird vermutlich in den Abbau der 3-Kohlenstoffkette aus dem Kohlenhydratstoffwechsel einbezogen, während der Abbauweg des Isopropylalkohols zum Aceton geht. Nach J. Pohl, A. W. Knipping, W. Ponndorf und H. Kemal wird beim Kaninchen, Hund und Menschen Isopropylalkohol als Aceton ausgeschieden. Es bleibt also zu erwägen, ob die Wirkung von Alkoholen auf den Wasserhaushalt in irgendeiner Weise mit ihrer Verarbeitung im Stoffwechsel zusammenhängt.

IV. Äthylalkohol, frühere Befunde.

Bei Studien über Alkoholwirkungen am Menschen stellten A. Bornstein und A. Loewy (1927) eine erhebliche Diurese nach oraler Aufnahme von 30 g Äthanol fest; dabei war weder die Chlorid- noch die Stickstoffexkretion je Zeiteinheit vermehrt. M. G. Eggleton (1942) fand eine lineare Abhängigkeit der diuretischen Wirkung von der Alkoholdosis, ferner eine Verstärkung bei niedriger Außentemperatur. Er stellte durch Blutalkoholbestimmungen fest, daß die Diurese bei langsamer Resorption und damit längerer Einwirkung, doch nicht so starkem Anstieg

des Blutalkoholspiegels am größten ist. Bei späteren Untersuchungen über den Einfluß des Nicotins auf die Alkoholdiurese (1949) zeigte sich nach intravenöser Injektion von Nicotin bei Gewohnheitsrauchern eine Verminderung der Urinmenge, während bei Nichtrauchern die Alkoholdiurese unverändert, in 30% der Fälle sogar signifikant gesteigert war. W. M. Nicholsen und H. M. Taylor fanden am Menschen nach Trinkenlassen der hohen Dosen von 2,1—2,4 ccm absoluten Alkohols je Kg in verdünnter Lösung in den ersten 8 Stunden eine erhebliche Vermehrung der Wasserausscheidung bei gleichzeitiger Retention von Kalium, Natrium, Chlorid und Stickstoff. In den folgenden 24—32 Stunden wurde Wasser

Tabelle 2. *Sondenversuch II. Durchschnittswerte der getrunkenen Wassermenge.*

Tier	ohne Alk.		24 Std nach So.		48 Std nach So.	
	Z.	cm^3	Z.	cm^3	Z.	cm^3
17	13	7,8	10	8,5	10	6,8
σ		2,7		3,4		2,0
ε		0,8		1,1		0,6
18	13	7,6	10	8,4	10	6,8
σ		2,9		2,7		1,1
ε		0,8		0,8		0,4
19	13	7,7	10	9,6	10	7,9
σ		2,6		1,3		1,0
ε		0,7		0,4		0,3
20	10	8,7	9	9,3	9	9,4
σ		2,9		2,2		2,5
ε		0,9		0,7		0,8
21	13	7,6	10	9,7	10	6,9
σ		1,1		2,3		1,4
ε		0,3		0,7		0,4
22	10	9,5	10	8,9	10	8,0
σ		4,0		3,1		2,2
ε		1,3		1,0		0,7
D		8,1		9,1		7,6

retiniert und Mineralien vermehrt ausgeschieden. N. Edkins und M. M. Murray (1931/32), sowie M. B. Strauss, J. D. Rosenbaum und W. P. Nelson (1950) bestätigten dagegen die Angaben von Bornstein und Loewy, daß ein Einfluß des Alkohols auf die Mineralausscheidung offenbar nicht besteht und erhoben auch Befunde, die für eine Hemmung der Inkretion von Vasopressin (Adiuretin) sprachen. H. B. van Dyke und R. G. Ames (1951) fanden an Hunden 50 mg Alkohol je Kg prompt diuretisch wirksam, wenn sie in die Carotis, dagegen nicht, wenn sie in eine Vene injiziert wurden. Orale Gaben von 560 mg je Kg erzeugten an normalen Hunden eine vermehrte Harnausscheidung; diese blieb aus bei Tieren mit Diabetes insipidus, der durch operative Durchtrennung der supraoptico-hypophysären Nerven zum Zwischenhirn erzeugt worden war; allerdings war die Harnsekretion dieser Tiere von vornherein 3—6mal größer, so daß es zweifelhaft erscheinen mag, ob ihr Harnapparat nicht sowieso an der Grenze seiner Leistungsfähigkeit angelangt war. Immerhin spricht die Summe aller dieser

Befunde sehr dafür, daß unter Alkohol die Absonderung des Vasopressins (Adiuretins) gehemmt wird und dann die dabei eintretende Erhöhung der Konzentration an Kristalloiden im Blut die Ursache für den in der Folgezeit eintretenden Durst wird.

V. Äthylalkohol, Sondenversuche.

Eigene Versuche mit Äthylalkohol wurden in der gleichen Weise ausgeführt wie mit Propylalkohol (vgl. S. 335). 4 Tiere erhielten mit 1 bis mehrtägigen Unterbrechungen wachsende Dosen von 3,5; 4,0 und 4,5 cm³ Alkohol je Kg in 20%iger Lösung mit der Schlundsonde; die

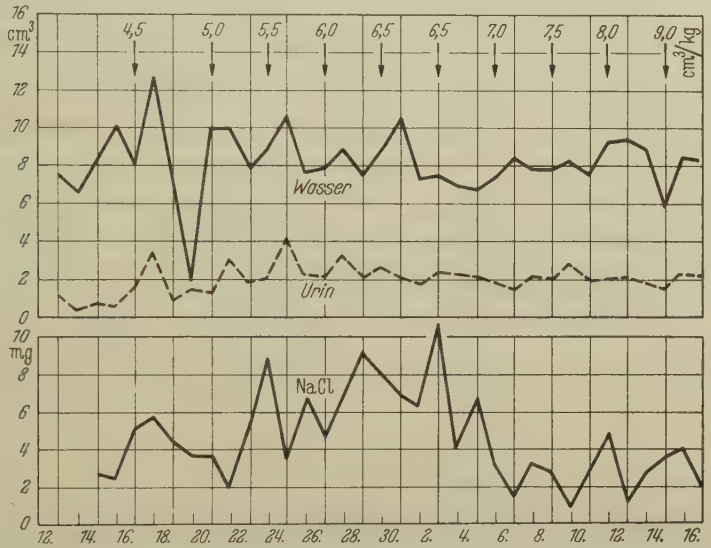


Abb. 2. Durchschnittskurve von 6 Tieren im Sondenversuch mit Äthylalkohol. Die Abszisse bedeutet Tage.

letzte dieser Dosen bewirkte bereits bei einigen Tieren Narkose. Höchstens auch diese Dosis war es, bei der man zur Not eine Erhöhung der spontan aufgenommenen Wassermenge anerkennen könnte. Sicherlich war auch dieser Effekt nicht überzeugend; er fehlte bei den kleineren Dosen vollständig. Eher ließ sich aus den erhaltenen Werten eine Verminderung der Chlorid-, allerdings auch der Flüssigkeitsausscheidung im Harn ablesen.

In einer zweiten Versuchsreihe an 6 Tieren wurden in gleicher Weise mit je 2 Tagen Pause wachsende Dosen von 4,5—9,0 cm³ je Kg oral verabreicht. Dabei wurde bemerkt, daß die narkotische Wirkung binnen wenigen Tagen trotz der steigenden Dosen verschwand. Bei 5 von diesen Tieren war die Wasseraufnahme in den ersten 24 Std nach der Dosis höher als im Durchschnitt der Vorperiode und als am folgenden Tag.

Die Erhöhung betrug im Mittel aller 6 Versuchsreihen 1,0 cm³ bei dem Durchschnittswert von 8,1 cm³ in der Vorperiode, 7,6 cm³ am folgenden Tag. Diese Erhöhung ist gewiß nicht hoch signifikant (vgl. Tab. 2). Immerhin scheint sie Beachtung zu verdienen, da die Einzeldaten ergeben haben, daß sich die Vermehrung der Wasseraufnahme auf die ersten 17 Tage beschränkte, in den nächsten 13 Tagen bei den höheren Dosen von 6,5—9,0 cm³ Alkohol je Kg jedoch ausblieb (Abb. 2). Die Kochsalzausscheidung war vom 8. bis zum 19. Tage an sichtlich erhöht,

Tabelle 3. *Durchschnittliche Trinkmenge bei den Trinkversuchen mit Äthylalkohol.*

Tier	ohne Alk.		Trinktag		Nachtag	
	Z.	cm³	Z.	cm³	Z.	cm³
1	22	9,3	8	10,7	8	6,6
σ		3,0		1,6		1,9
ε		0,6		0,6		0,7
2	18	12,5	8	16,1	6	9,8
σ		5,9		7,8		4,8
ε		1,4		2,8		2,0
3	19	10,0	7	10,8	6	8,2
σ		3,0		2,6		2,2
ε		0,7		1,0		0,9
5	13	9,0	6	10,4	5	7,6
σ		1,9		3,1		2,5
ε		0,5		1,3		1,1
6	11	13,1	8	13,6	6	12,7
σ		2,3		2,1		2,0
ε		0,8		0,7		0,8
7	16	10,4	3	10,3	3	9,8
		3,0		2,7		6,0
		0,8		1,6		3,5
D		10,7		12,0		9,1

nämlich von 3,7 auf 10,1 mg durchschnittlich in 24 Std, während sie vom 20. Tage bis zum Versuchsende niedrig blieb (Durchschnitt 3,1 mg). Bezogen auf die Alkoholgabe war die Kochsalzausscheidung am folgenden Tage oft deutlich erniedrigt. In der Periode der geringen Kochsalzausscheidung mit der von der Alkoholzufuhr unabhängigen Wasseraufnahme übte der Alkohol keine narkotische Wirkung aus. Zu dem Verständnis des Durstes nach Alkoholaufnahme vermögen diese Befunde nicht mehr beizutragen, als daß eine Neigung zur Kochsalzretention unter unmittelbarer Alkoholwirkung bei meist gleichzeitig verstärkter Wasserdiurese nicht zu übersehen ist. Die Stickstoffausscheidung wurde durch die Alkoholgaben in keiner Weise beeinflußt.

VI. Äthylalkohol, Trinkversuche.

Bei der Spontanaufnahme von Alkohol zeigten sich erwartungsgemäß große individuelle Unterschiede. Eine Gewöhnung an steigende Konzentrationen — bis 9% — war verhältnismäßig leicht zu erzielen. Das Angebot beschränkte sich stets auf 20 Std am Tag; es wurde nur nach mehrtägigen Pausen wiederholt.

Die Aufnahme von Alkohol betrug bei dieser Art der Darreichung 0,5—9,5 cm³ je Kg in 20 Std. Zur Ermittlung der Durchschnittswerte wurden alle Dosen ab 2,0 cm³ je Kg und darüber herangezogen. Wie aus Tab. 3 ersichtlich, war die Trinkmenge bei 3 Tieren während der Alkoholgabe und der folgenden 4 Std erhöht, während sie bei den anderen 3 Tieren nicht oder kaum vermehrt war. Eine Dosisäbhängigkeit des Ausmaßes der vermehrten Wasseraufnahme bestand nur scheinbar, da mit einer größeren Alkoholdosis die Aufnahme einer entsprechenden Menge Lösungswassers zwangsläufig verbunden war.

Bei einem Tier (2) war auffällig, daß die Wasseraufnahme nach einer Trinkdosis von 2,4 cm³ je Kg 24,3 cm³, und nach einer mit der Sonde applizierten von 4,5 cm³ Alkohol je Kg nur 9,6 cm³ betrug bei einer durchschnittlichen normalen Trinkmenge von 12,5 cm³. Ob hier eine *lokale* Wirkung des Alkohols auf die Rachenschleimhaut an der Dursterzeugung beteiligt war, mag offen bleiben.

Die Chlorid- und Stickstoffausscheidung war an den Alkoholtagen nicht wesentlich verändert.

VII. Weinbrand.

Zum Unterschied vom reinen Äthylalkohol wurde der Weinbrand nur in Dosen zwischen 0,4 und 4,4 cm³ je Kg, maximal in einem Falle bis 7,2 cm³ je Kg getrunken. Die größte Zahl der Versuche (über 68%) lag bei Dosen zwischen 2 und 3 cm³ je Kg. Bei 2 Tieren war die Trinkmenge im Durchschnitt während des Versuches einschließlich der folgenden 4 Std erhöht, bei 3 weiteren Tieren noch deutlich, jedoch innerhalb der Fehlergrenzen. Auch hier wurden zur Ermittlung der Durchschnittswerte nur Dosen ab 2,0 cm³ Alkohol je Kg herangezogen. Es zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zu den Trinkversuchen mit reinem Äthanol.

Zusammenfassung.

Nach Applikation von n-Propanol an Ratten mit der Schlundsonde in Dosen von 2,0—3,5 cm³ je Kg wurde erheblich mehr Wasser getrunken als normalerweise. Gleichzeitig trat eine starke Diurese auf, die mit einer erhöhten Stickstoffausscheidung einherging. Mehrfach wurde Kochsalz retiniert.

In gleicher Weise gegebene Dosen von 2,5 und 3,0 cm³ Isopropylalkohol je Kg hatten keinerlei Einfluß auf die Trinkmenge.

Applikation von Äthylalkohol in Dosen von 4,5—6,5 cm³ je Kg mit der Schlundsonde erzeugte Nachdurst. Die jeweis deutlich erhöhte Urinmenge ging häufig mit einer verminderten Kochsalzausscheidung einher.

Die Wirkung von Weinbrand auf den Wasserhaushalt unterscheidet sich nicht merklich von der des Äthylalkohols.

Literatur.

Bornstein, A., u. A. Loewy: Biochem. Z. **191**, 271 (1927). — van Dyke, H. B., and R. G. Ames: Acta endocr., K'hvn. **7**, 110 (1951). — Edkins, N., and M. Murray: J. of Physiol. **71**, 403 (1931). — Eggleton, M. G.: J. of Physiol. **101**, 172 (1942); **108**, 482 (1949). — Kemal, H.: Biochem. Z. **187**, 461 (1927). — Knipping, H. W., u. W. Ponndorf: Hoppe-Seylers Z. **160**, 51 (1926). — Kramer, M.: Med. Diss. Berlin, F. U. (1952). — Lendle, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **175**, 424 (1928). — Murray, M.: J. of Physiol. **76**, 379 (1932). — Nicholsen, W. M. and H. M. Taylor: J. Clin. Invest. **17**, 279, (1938). — Pohl, J.: Biochem. Z. **127**, 67 (1922). — Strauss, M. B., J. D. Rosenbaum and W. P. Nelson: J. Clin. Invest. **29**, 1053 (1950).

Professor Dr. W. Heubner, Berlin-Dahlem, Pharmakol. Institut, Thielallee 71.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 343—348 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Erlangen.

Über die „arterenergische" Natur durch Pendiomid (Pentamethylazapentylendiäthyldiammoniumdibromid) nicht blockierbarer sympathischer Nerven.

Von

Fritz Heim und H. Wagner.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Januar 1953.)

In einer früheren Arbeit wurde von uns mitgeteilt, daß es an der Katze unter der Einwirkung hoher Dosen des ganglionblockierenden Pendiomids (38 mg/kg) zur Unterbrechung der Erregungsleitung im Vagus kam, während sympathische Bahnen nur für bestimmte Reize durch Pendiomid blockiert wurden. Die durch Kohlensäurereize über eine Erregung vasopressorischer Zentren ausgelöste Blutdrucksteigerung nahm unter Pendiomid um 100—120% zu. Sie war auch nach Entfernung beider Nebennieren noch vorhanden, so daß an der pressorischen Wirkung der CO_2-Reize die Hormone des Nebennierenmarks fast nicht beteiligt waren. Das gleiche gilt nach Heymans u. Bouckaert und Vleeschhouwer für die unter Carotissinusentlastung bzw. bei Asphyxie auftretende Blutdrucksteigerung. Die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins und Arterenols wurde durch die oben genannten Pendiomiddosen auf das 3fache gesteigert.

Um festzustellen, ob die sympathischen Bahnen, deren ganglionäre Synapsen durch Pendiomid nicht zu blockieren waren, arterenergischer oder adrenergischer Natur sind, haben wir in dieser Arbeit die durch Erhöhung der CO_2-Konzentration auslösbaren und durch Pendiomid nicht blockierbaren Kreislauf- und Stoffwechselreaktionen mit den gleichen Wirkungen des Arterenols und Adrenalins verglichen.

Methodik.

Die Versuche wurden an Katzen durchgeführt, die als Narkoticum 80 mg/kg Chloralose mit einem geringen Urethanzusatz i. m. erhielten. Der Blutdruck in der linken Carotis wurde mittels eines Quecksilbermanometers, die Herzfrequenz mittels eines im Nebenschluß zum Quecksilbermanometer befindlichen Hürthleschen Membranmanometers registriert. Bei den im ersten Teil der Arbeit zu beschreibenden Versuchen wurden die Tiere mittels der Starlingschen Atmungspumpe mit Luft bzw. aus einem Krogh'schen Spirometer mit einem Gemisch von 95% Luft + 5% CO_2 künstlich beatmet. Zur Erzielung einer Sauerstoffverarmung bei gleichzeitiger Zunahme der CO_2-Spannung im Blut und Gewebe wurde die Atmungspumpe 3 min abgestellt. Bei den im zweiten Teil der Arbeit mitgeteilten

Stoffwechselversuchen wurden neben dem Blutdruck und der Herzfrequenz der Sauerstoffverbrauch der Tiere mittels des Krogh'schen Spirometers laufend und die Blutzuckerkonzentration in ½ –1stündigen Abständen nach der Methode von Hagedorn-Jensen bestimmt. Um in diesen Versuchen bei unveränderter O_2-Verbrauchsmessung über längere Zeit eine Erhöhung der alveolären CO_2-Spannung zu erzielen, wurde der „tote Raum", der normalerweise von der Lunge bis zu den Abzweigungen des Ein- und Ausatmungsschlauches an der Trachealkanüle reichte, durch Vorsetzen eines Glasrohres von 60 cm Länge und 0,45 l Fassungsvermögen vergrößert. Dabei konnte das Auftreten einer geringen Spontanatmung als Folge der Erregung des Atmungszentrums in einigen Versuchen nicht vermieden werden.

Versuche.

I. Teil. In 5 Versuchen wurde das Verhalten des Blutdrucks und der Herzfrequenz nach intravenösen Einzelgaben von Adrenalin und Arterenol, unter CO_2-Beatmung, während und im Anschluß an den Stillstand

Abb. 1. Zeigt das Verhalten des Blutdrucks und der Herzfrequenz gegenüber Adrenalin, Arterenol, CO_2-Beatmung und Asphyxie nach Vorbehandlung mit 110 mg/kg Pendiomid und 1,4 mg/kg Yohimbin + 0,9 mg/kg Dihydroergotamin + 4,5 mg/kg Cocain. Katze, 2200 g, 80 mg/kg Chloralose, künstliche Beatmung mit Luft. Registrierung des Blutdrucks in der li. Carotis durch Quecksilbermanometer, der Herzfrequenz mittels eines Hürthle'schen Membranmanometers. *A* l-Adrenalin, *N* l-Noradrenalin (Arterenol), *Pu.St.* Stillstand der Atempumpe. Die Zahlen bedeuten Herzfrequenz pro Minute.

der Atmungspumpe untersucht und nach einer hohen Pendiomiddosis erneut geprüft. Noch während die Tiere unter dem Einfluß des Pendiomids standen, erhielten sie zur Erzielung einer Adrenalinumkehr und gleichzeitigen Sensibilisierung des Gefäßsystems gegenüber sympathikomimetischen Stoffen intravenös 0,3—0,9 mg kg Dihydroergotamin, 1,5—5 mg/kg Yohimbinhydrochloric. und 4—6 mg/kg Cocain. hydrochloric. im Abstand von je 1 min. Anschließend wurde das Verhalten des Blutdrucks und der Herzfrequenz gegenüber den oben genannten Reizen wieder geprüft. Abb. 1 gibt einen Ausschnitt aus einem derartigen Versuch wieder. In diesem Versuch entsprach nach Vorbehandlung mit 90 mg/kg Pendiomid, die unter CO_2-Beatmung und Asphyxie aufgetretene Blutdrucksteigerung etwa der pressorischen Wirkung von 1,25 γ Arterenol bzw. 5 γ Adrenalin. Wie nun Abb. 1 zeigt, bewirkten auch nach Dihydroergotamin, Yohimbin und Cocain 5 γ, 2,5 γ und 0,5 γ Arterenol, CO_2-Beatmung und Asphyxie eine eindeutige Blutdrucksteigerung, während 10 γ und 5 γ Adrenalin jetzt drucksenkend wirkten. Nach 20 γ Adrenalin kam es nur zu einer sehr kurzen initialen Blut-

drucksteigerung. Nach Dihydroergotamin, Yohimbin und Cocain entsprach auch das Verhalten der Herzfrequenz unter CO_2-Reizen mehr dem gleich blutdruckwirksamer Arterenol- als Adrenalindosen. Wie aus der Abb. 1 hervorgeht, blieben die CO_2-Reize ohne Einfluß auf die Herzfrequenz, die durch 0,5—2,5 γ Arterenol nur eine Steigerung um 8—9% erfuhr. 20 γ Adrenalin dagegen steigerten die Herzfrequenz um 27%, obwohl sie eine geringere pressorische Wirkung als selbst 0,5 γ Arterenol zeigten.

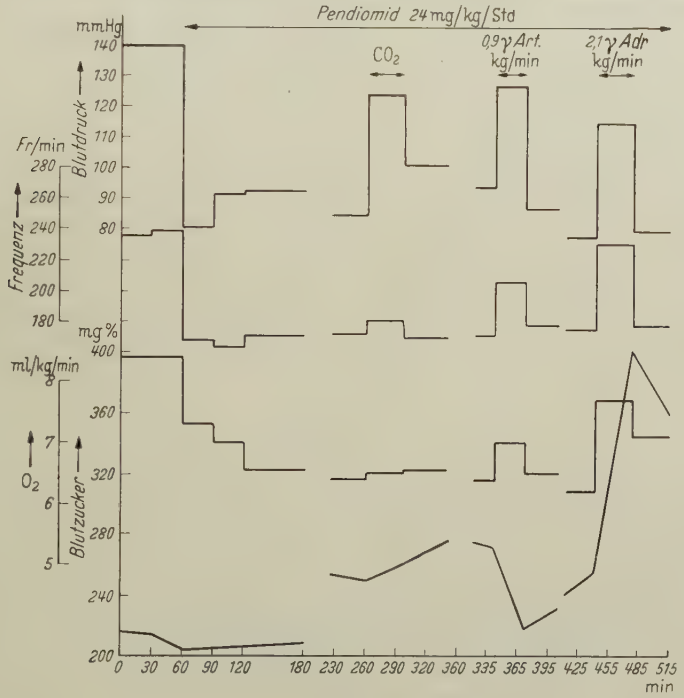


Abb. 2.
Mittelwerte aus 5 Versuchen an Katzen in Chloralosenarkose, die mit Sauerstoff künstlich beatmet wurden. Von oben nach unten: Blutdruck, Herzfrequenz, Sauerstoffverbrauch und Blutzucker.

II. Teil. In dieser Versuchsreihe wurde an 5 mit reinem Sauerstoff künstlich beatmeten Katzen unter einer Pendiomiddauerinfusion der Einfluß einer halbstündigen CO_2-Reizung, einer Arterenol- und Adrenalindauerinfusion auf Blutdruck, Herzfrequenz, O_2-Verbrauch und Blutzuckerhöhe miteinander verglichen. Die aus den 5 Versuchen für die jeweils zueinander gehörenden Versuchsperioden errechneten Mittelwerte des Blutdrucks, der Herzfrequenz, des O_2-Verbrauchs und des Blutzuckers wurden in Abb. 2 als Funktion der Zeit graphisch dargestellt. Die auf der Abszisse angeführte Zeit und die Mengenangaben für Pendiomid, Arterenol und Adrenalin entsprechen ebenfalls den Mittelwerten aus den 5 Versuchen. Nach einer 1stündigen Vorperiode, in

der sich, wie Abb. 2 zeigt, Blutdruck, Herzfrequenz, O_2-Verbrauch und Blutzucker kaum änderten, wurden mit einer intravenösen Dauerinfusion von 24 mg/kg/Std Pendiomid begonnen. Blutdruck, Herzfrequenz und Sauerstoffverbrauch fallen während der Infusion stark ab, die Blutzuckerkonzentration wird dagegen kaum beeinflußt. Die durch Vergrößerung des toten Raums erzielte Erhöhung der alveolären CO_2-Spannung führt zu einer Blutdrucksteigerung um 39 mm Hg, zur Zunahme der Herzfrequenz und einer sehr geringen Steigerung des Sauerstoffverbrauchs. Der durch CO_2-Reiz ausgelöste geringe Blutzucker- und Sauerstoffverbrauchsanstieg überdauern die Reizung. Eine halbstündige intravenöse Dauerinfusion von 0,9 γ/kg/min Arterenol führt zur Erhöhung des Blutdrucks um 33 mm Hg. Die Herzfrequenz nimmt dabei um 20% und der Sauerstoffverbrauch um 9% zu. Die Blutzuckerkonzentration sinkt während der Arterenoldauerinfusion um 53 mg% ab. Zur Erzielung einer Drucksteigerung, die in der Größenordnung etwa der durch CO_2-Reize bzw. durch die Arterenoldauerinfusion erreichten entsprach, war die intravenöse Dauerinfusion von 2,1 γ Adrenalin/kg/min notwendig. Unter dieser Adrenalindosis steigen die Herzfrequenz um 32%, der Sauerstoffverbrauch um fast 25% und der Blutzucker um 146 mg% an.

Besprechung.

Die Versuche des Teil I ergaben, daß nach Vorbehandlung mit hohen Pendiomiddosen Arterenol, Adrenalin und CO_2-Reize gleichermaßen blutdrucksteigernd wirkten. Während nach Vorbehandlung mit Pendiomid und zusätzlicher Verabreichung von Dihydroergotamin, Yohimbin und Cocain die blutdrucksteigernde Wirkung des Arterenols und der CO_2-Reize bestehen blieb, wurde die Adrenalinwirkung aufgehoben oder umgekehrt. Gleichzeitig entsprach der Einfluß von CO-Reizen auf die Herzfrequenz mehr dem des Arterenols als des Adrenalins. Diese Beobachtungen sprechen sehr dafür, daß der durch CO_2Reize ausgelöste Druckanstieg über sympathische, durch Pendiomid nicht blockierbare Bahnen zustandekommt, die als chemische Überträgersubstanz Arterenol bilden.

Die in Abb. 2 wiedergegebenen Versuchsergebnisse zeigen erneut das Vorhandensein ganglionär nicht blockierbarer sympathischer Bahnen.

Denn eine direkte CO_2-Wirkung, zumindest auf Herzfrequenz und Gefäßtonus, kann deshalb ausgeschlossen werden, weil nach Versuchen von H. Rein in denervierten Körpergebieten die Erhöhung der CO_2-Spannung im Blut keine Änderungen der Gefäßweite hervorruft und nach den Beobachtungen von Gremels und Starling und neuerdings von Meeter am isolierten Herz-Lungenpräparat Erhöhung der CO_2-Konzentration im Blut niemals Pulsbeschleunigung, sondern häufiger eine Verlangsamung erzeugt.

Von etwa gleicher blutdrucksteigernder Wirkung wie eine halbstündige Erhöhung der alveolären CO_2-Spannung erwiesen sich intravenöse Dauerinfusionen von 0,9 γ Arterenol/kg/min bzw. 2,1 γ Adrenalin/kg/min. Doch betrug die durch Adrenalin hervorgerufene Zunahme der Herzfrequenz das 6fache, die des Sauerstoffverbrauchs das 16,6fache und die Erhöhung der Blutzuckerkonzentration das 16,5fache der Änderungen, die durch Erhöhung der alveolären CO_2-Spannung hervorgerufen wurden. Die während der Dauerinfusion von 0,9 γ/kg/min Arterenol beobachteten Änderungen der Herzfrequenz, des Sauerstoffverbrauchs und des Blutzuckers wichen in der Größenordnung dagegen nicht so stark von den unter CO_2-Beatmung beobachteten Änderungen ab. Die trotzdem vorhandenen Unterschiede in der Wirkung der CO_2-Reizung und der Arterenoldauerinfusion beruhen sehr wahrscheinlich darauf, daß bei der durch Kohlensäure hervorgerufenen Erregung sympathischer Zentren eine umschriebene Freisetzung von Arterenol an den Nervenendigungen, vorwiegend aber in der Gefäßwand stattfindet, während bei der intravenösen Dauerinfusion Arterenol auf dem Blutwege gleichermaßen an alle Organe gelangt. In Verbindung mit den im I. Teil der Arbeit beschriebenen Versuchen sprechen die in Abb. 2 wiedergegebenen Versuchsergebnisse dafür, daß die durch hohe Dosen des ganglionblockierenden Pendiomids nicht unterdrückte, durch CO_2Reize ausgelöste Blutdrucksteigerung und die sie begleitenden Änderungen der Herzfrequenz, des Sauerstoffverbrauchs und der Blutzuckerkonzentration nicht über die Bildung und Abgabe von Adrenalin sondern von Arterenol zustandekommen.

Zahlreiche elektrische Reizversuche an sympathischen Nerven sprechen für deren vorwiegend arterenergische Natur (v. Euler). P. Holtz und Schümann vertreten die Auffassung, daß die bei der Erregung vasomotorischer Reflexzentren hervorgerufene Blutdrucksteigerung vorwiegend über arterenergische Vasoconstrictoren zustande kommt, während bei Reizung übergeordneter sympathischer Zentren eine nervale Freisetzung und hormonale Ausschüttung von Adrenalin erfolgen soll. Sie konnten ebenso wie Folkow und Uvnäs und Vleeschhouwer zeigen, daß die durch Carotissinusentlastung ausgelöste Blutdrucksteigerung hauptsächlich durch das an sympathischen Nervenendigungen freiwerdende Arterenol hervorgerufen wird. Marsh und van Liere und Vleeschhouwer beobachteten dagegen nach Ergotamin, Yohimbin und Dihydroergotamin am Hund nicht nur eine Umkehr der blutdrucksteigernden Adrenalinwirkung, sondern auch der durch Asphyxie ausgelösten Blutdrucksteigerung, so daß bei intaktem, nicht blockiertem vegetativen Nervensystem zwar die durch Carotissinusentlastung, nicht dagegen die durch CO_2-Reize ausgelöste Drucksteigerung durch die Freisetzung von Arterenol zustande zu kommen scheint.

Auf Grund unserer Beobachtungen mit Kohlensäurereizen darf man deshalb annehmen, daß durch Pendiomid vorwiegend die ganglionären Synapsen adrenergischer Nerven blockiert werden, so daß unter Pendiomid von sympathischen Zentren kommende Erregungsimpulse über nicht blockierbare arterenergische Bahnen zum Erfolgsorgan geleitet werden.

Zusammenfassung.

An Katzen in Chloralosenarkose wurde gezeigt, daß die durch Erhöhung der CO_2-Konzentration in der Atemluft bzw. im Blut und Gewebe ausgelöste Blutdrucksteigerung durch das ganglienblockierende Mittel Pendiomid nicht aufgehoben wird. Nach Vorbehandlung mit Pendiomid, Dihydroergotamin, Yohimbin und Cocain kommt es zur Umkehr der blutdrucksteigernden Adrenalinwirkung, die durch Arterenol und Kohlensäurereize hervorgerufene Drucksteigerung bleibt dagegen bestehen. Auch die unter Pendiomid durch Kohlensäurereizung hervorgerufenen Änderungen der Herzfrequenz, des Sauerstoffverbrauchs und der Blutzuckerkonzentration entsprechen viel mehr der Wirkung des Arterenols als der des Adrenalins. Es wird deshalb angenommen, daß die durch Pendiomid blockierbaren sympathischen Nerven vorwiegend adrenergischer, die nicht blockierbaren dagegen arterenergischer Natur sind.

Literatur.

v. Euler, U. S.: Erg. Physiol. **46**, 261 (1950). — Folkow, B., u. B. Uvnäs: Acta physiol. Scand. **15**, 365 (1948); **17**, 191 (1949). — Gremels, H., and E. Starling: J. of Physiol. **61**, 297 (1926). — Heim, F., u. H. Wagner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 550, (1953). — Heymans, C., and I. Bouckaert: Arch. internat. Pharmacodynamie **48**, 191 (1934). — Holtz, P., A. Engelhardt, K. Greef u. H. J. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 58 (1952). — Holtz, P., u. H. J. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 49 (1949). — Marsh, D. F., and E. van Liere: J. of Pharmacol. **94**, 221 (1949). — Meeter, E.: Acta brevia Neerlandica **16**, 31 (1948). — Rein, H.: Physiologie des Menschen, S. 100—102. Berlin 1941. — Vleeschhouwer, G. R.: Arch. internat. Pharmacodynamie **78**, 366, 461 (1949).

Prof. Dr. Fritz Heim, Erlangen, Pharmakol. Inst. d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 349—354 (1953).

Aus der Augenklinik der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. E. Custodis)
und dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. F. Hahn).

Histochemische Untersuchungen zur Frage der Linsenpermeabilität.

Von
Hans Pau und Walter Rummel.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Februar 1953.)

Es gibt Befunde, die keinen Zweifel darüber lassen, daß auch für die Salz- und Wasserverteilung zwischen Linse und Milieu wie bei anderen Zellen[18, 17] Stoffwechselprozesse unmittelbar verantwortlich sind. Der Nachweis hierfür wurde zum Teil mit den gebräuchlichen Stoffwechselinhibitoren erbracht[13, 14, 7]. Da für einen gerichteten Ionentransport, wie er auch für die Linse in diesem Zusammenhang diskutiert wird, eine besondere Verteilung von Fermenten bedeutsam sein könnte, soll hier untersucht werden, ob sich bestimmte Fermente oder Fermentgruppen histochemisch in irgendeiner charakteristischen Weise in der Linse lokalisieren lassen und die auf solche Art markierten Fermentsysteme durch Inhibitoren beeinflußt werden, deren Wirkung auf die Linsenpermeabilität bekannt ist. Die Anregung zu diesem Vorgehen stammt aus den Arbeiten von Stiehler, Flexner u. Friedenwald, die ähnliches für das Corpus ciliare, den Plexus chorioideus und das Tubulusepithel der Nieren durchgeführt haben[6].

Methode.

Wir benutzten Rinderlinsen vorwiegend von jungen Tieren. Es wurde nur gesundes Material verwandt. Ein Paarling diente jeweils als Kontrolle, um individuelle Unterschiede möglichst zu eliminieren. Die Kontrollinsen wurden in 10 cm³ einer Lösung folgender Zusammensetzung belassen: zu 5 cm³ physiologischer NaCl-Lösung 5 cm³ isotonische Phosphatpufferlösung p_H 7,4[12] (in den Versuchen mit Monojodessigsäure wurde nur Phosphatpufferlösung verwandt); 1% Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) bzw. 0,1% p-Phenylendiamin (PPD). Mit diesen beiden Farbstoffen sind einerseits Prozesse mit stark negativem und andererseits mit stark positivem Redoxpotential erfaßbar. PPD wurde schon früher[18, 15] und auch neuerdings[8] zu Untersuchungen an der Linse benutzt. Im zugehörigen Versuchsansatz enthielt die Lösung außerdem noch als Inhibitoren: Äthylurethan, Monojodessigsäure, Kaliumcyanid oder Dinitrophenol. Die Konzentrationsangaben beziehen sich jeweils auf 1000 cm³ des Versuchsansatzes. Am Ende einer 24stündigen Inkubation bei Zimmertemperatur im Dunklen wurde der positive oder negative Ausfall der Farbreaktion unter den jeweiligen Bedingungen makroskopisch festgestellt und die

Farbstoffverteilung mikroskopisch an der intakten (gut durchleuchtbaren) Linse, im Quetschpräparat und im Gefrierschnitt untersucht. Die im folgenden zu schildernden Beobachtungen gründen sich auf insgesamt 200 Versuche an Gruppen von jeweils 10 Linsenpaaren.

Ergebnisse.

TTC und PPD wurden als Fermentindicatoren gewählt, weil es damit möglich ist, sich über Verteilung und Verhalten der beiden wichtigsten Systeme, des Dehydrase- und Cytochrom-Cytochromoxydasesystems zu orientieren.

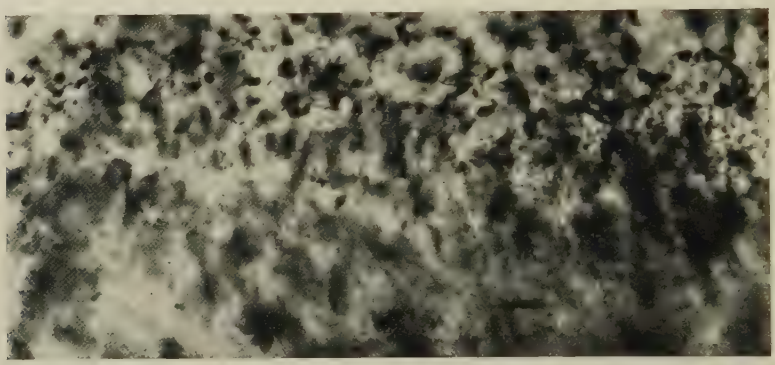


Abb. 1. Rote Formazankristalle dicht unter der vorderen Kapsel. Optischer Schnitt (oben → unten = vorne → hinten). 1:400.

Beide Farbstoffe kommen in der Linse tatsächlich zur Entwicklung, wenn auch nicht immer gleich gut. Bei einigen Linsen blieb die Rotfärbung durch TTC völlig aus, was ein weiterer Hinweis auf die von uns schon in anderem Zusammenhang beobachtete unterschiedliche Überlebensfähigkeit sein dürfte[13, 14]. — Die Farbreaktionen mit TTC und PPD sind an verschiedene Orte gebunden, d. h. die Dehydrasesysteme mit starker Reduktionskraft* sind anders lokalisiert als das Cytochrom-Cytochromoxydasesystem mit seiner hohen Oxydationskraft.

Die rote Farbreaktion mit TTC zeigte sich makroskopisch besonders intensiv dicht unter der ganzen vorderen und weniger ausgeprägt unter der hinteren Kapsel. Die beiden unterschiedlich stark gefärbten Bezirke schneiden scharf begrenzt, am Äquator, entsprechend der Epithelgrenze, gegeneinander ab.

Mikroskopisch findet sich im Gefrierschnitt eine nach Lage dem Epithelbereich der Vorderkapsel entsprechende dichte Rotfärbung, die wieder plötzlich am Äquator endet. Die Epithelien selbst sind dabei offenbar ungefärbt. Außerdem sieht man in der ganzen vorderen Rinde kleine rote Formazankristalle, die in der hinteren Rinde vermißt werden.

* Zur Entwicklung von Formazan aus TTC bei p_H 7 ist ein unter —170 mV liegendes Redoxpotential nötig.

Beim Flachschnitt zeigt sich unmittelbar unter den Kapseln, unter der vorderen (Abb. 1) stärker als unter der hinteren, ein dichtes Gewirr dieser winzigen roten Kristalle, die sich bei stärkerer Vergrößerung

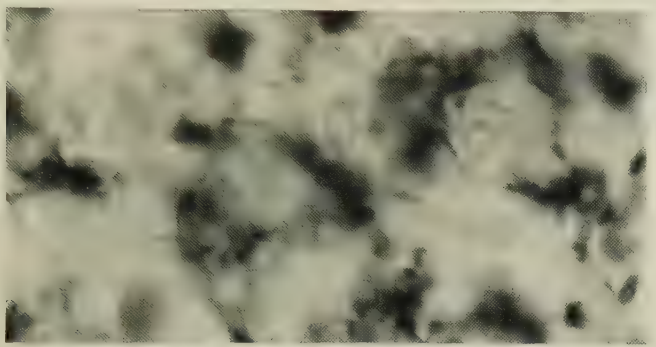


Abb. 2. Rote Formazankristalle, die sich um die Linsenepithelien gruppieren (stärkere Vergrößerung). 1:1200.

(Abb. 2) deutlich um die Epithelien gruppieren*. Auch die oberflächlichsten Linsenparenchymschichten werden teilweise, und zwar vorne wieder mehr als hinten, von solchen Formazankristallen eingescheidet (Abb. 3).

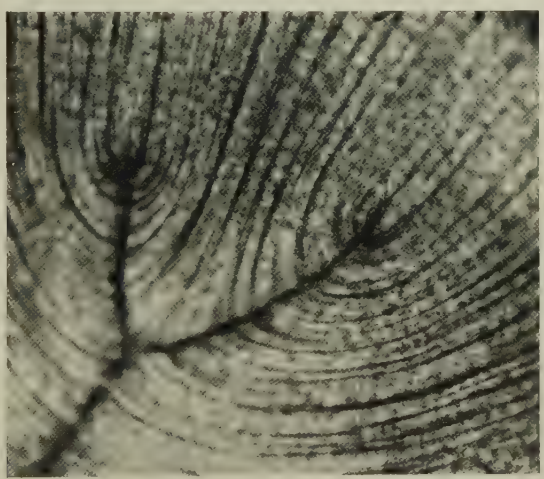


Abb. 3.
Oberflächliche Linsenfasern in der Nähe der Nähte von Formazankristallen eingescheidet. 1:200.

Wenn man die Farbstoffe am intakten Bulbus in die Kammer injiziert, dann ist die Rotfärbung unter der Vorderkapsel erheblich intensiver in dem Bereiche, dem

* Eine Ausbildung des Formazans um die Zelle herum wurde auch schon an Ganglienzellen bei Spinalganglien der Katze anläßlich anderer Untersuchungen beobachtet (Hahn, F., u. W. Rummel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 325 (1950)).

die Iris auflag, während ein zentraler, scharf begrenzter Bezirk, der ziemlich genau der jeweiligen Pupillenweite entspricht, deutlich eine schwächere Färbung aufweist.

Makroskopisch erschien die schwarze Farbreaktion PPD vorwiegend dicht unter der Vorderkapsel, mit scharfem Abschluß am Äquator, aber auch in einem gewissen Grade in der Umgebung der oberflächlichsten Linsennähte.

Mikroskopisch entsprach die schwarze subkapsuläre Schicht den Linsenepithelien (Abb. 4), und zwar waren besonders intensiv die Epi-

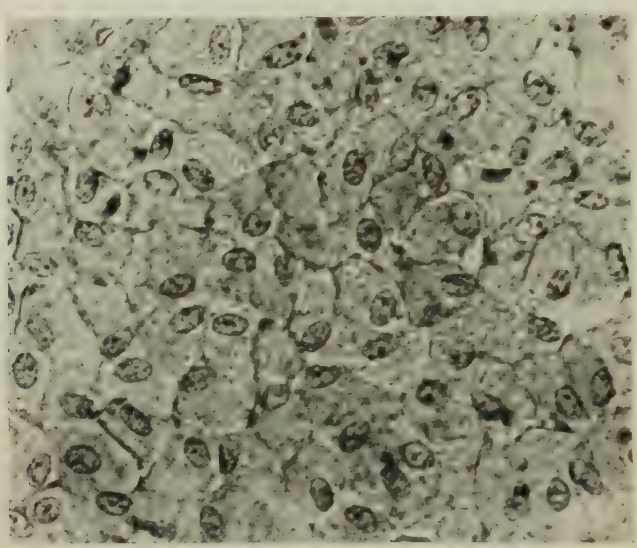


Abb. 4.
p-chinoide Farbstoffe in den Linsenepithelien (am ausgesprochensten in den Kernen). 1:800.

thelkerne gefärbt. Im Bereiche der Nähte bestand eine feinkörnige, geringgradige, schwarze Färbung der Parenchymfasern selbst. Es zeigte sich allerdings, was im Gefrierschnitt gut erkennbar war, daß nur die oberflächlichsten Fasern die Farbe aufwiesen. Bei Berührung sowie bei längerem Verweilen in der Testflüssigkeit wurden die Epithelzellen zerstört, und der schwarze Farbstoff wanderte auf Grund seines offenbar geringen spezifischen Gewichtes unter der abgelösten Kapsel nach oben.

Die Prüfung der Wirkung von Äthylurethan, Monojodessigsäure, Dinitrophenol und Kaliumcyanid auf die Entwicklung

1. von Formazan aus TTC und

2. von p-chinoiden Farbstoffen aus PPD ergab die auf den Tabellen verzeichneten Befunde:

Aus den Tabellen ist zu entnehmen, daß das formazanentwickelnde Fermentsystem durch Äthylurethan, Monojodessigsäure und Dinitrophenol, Inhibitoren, die das Cytochrom-Cytochromoxydasesystem nicht

beeinflussen, gehemmt wird und daß andererseits Kaliumcyanid, der typische Hemmstoff für das Cytochrom-Cytochromoxydasesystem den formazanentwickelnden Prozeß nicht beeinträchtigt.

Tabelle 1 *(Formazan).*

Äthylurethan	1,14 m	0,34 m	0,114 m	Kontrolle
	∅	(+)	+	+ + +
Monojodessigsäure . .	0,025 m			
	(+)			+ + +
Dinitrophenol	0,001 m	0,0001 m		
	∅	+		+ + +
Kaliumcyanid	0,01 m	0,001 m		
	+ + +	+ + +		+ + +

Tabelle 2 *(p-chinoide Farbstoffe).*

Kaliumcyanid	0,1 m	0,01 m	0,001 m	Kontrolle
	∅	(+)	+	+ + +
Äthylurethan	0,34 m			
	+ + +			+ + +
Monojodessigsäure . .	0,025 m			
	+ + +			+ + +
Dinitrophenol	0,001 m			
	+ + +			+ + +

∅ = keine Farbentwicklung; + + + = Farbentwicklung wie bei den Kontrollinsen.

Disskussion.

Diese Befunde ergänzen in zweifacher Weise unsere bisherigen Kenntnisse über die Zusammenhänge zwischen Stoffwechsel und Permeabilitätseigenschaften der Linse. Als erstes ist bemerkenswert, daß die Stoffwechselinhibitoren wie Äthylurethan[13, 14], Monojodessigsäure und KCN[7], von denen bekannt ist, daß sie zu Wasser- und Salzverschiebungen an der Linse führen, auch gleichzeitig die mit TTC und PPD markierbaren Fermentsysteme blockieren. Entsprechende experimentelle Untersuchungen über etwaige Veränderungen der Durchlässigkeitseigenschaften der Linse durch Dinitrophenol fehlen zwar noch, aber per analogiam darf erwartet werden, daß wie in anderen Fällen[16, 11] auch hier die Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung zu entsprechenden Veränderungen führt, zumal auch klinisch die Dinitrophenolkatarakt bekannt ist[8, 2, 3, 10, 1]. — Weiterhin kennen wir jetzt die Lokalisation der an der Erhaltung einer physiologischen Verteilung von Salzen und Wasser beteiligten Fermentsysteme und wissen, daß sie an verschiedenen Orten sitzen.

Die Beobachtung einer intensiveren Formazanentwicklung in dem Bereich, wo die Iris auflag, ist durch eine Begünstigung reduktiver Prozesse zu erklären, vielleicht

weil die Sauerstoffdiffusion behindert ist. Dieses postmortale Artefact wäre uninteressant, wenn diese Lokalisation nicht weitgehend der Ausdehnung der Kupfer- und Silberkatarakte entspräche. In diesem Zusammenhang soll auch darauf hingewiesen werden, daß im Gegensatz dazu das Eisen bei der Siderosis lentis dort gefunden wird, wo sich das eisenhaltige Fermentsystem lokalisieren läßt, nämlich in den Epithelien.

Ob gerade diese besondere Lokalisation z. B. des formazanfärbbaren Systems unter der Kapsel, vor allem um die Epithelien, und die Anhäufung des Cytochrom-Cytochromoxydasesystems im Epithel von besonderer Bedeutung für die aktiven Transportvorgänge sind, etwa in einer Weise, wie es in der Theorie von Flexner u. Stiehler[6] für den Plexus choriodeus formuliert wird, kann ohne ins Spekulative zu geraten nicht entschieden werden. Sicher ist jedenfalls —, dafür gibt es Beispiele[18, 17] — daß ganz allgemein eine besondere Ordnung von Fermenten für einen fermentativ kontrollierten, gerichteten Transport Voraussetzung ist.

Zusammenfassung.

1. Bei Anfärbung der Linse mit Triphenyltetrazoliumchlorid und p-Phenylendiamin zeigt sich, daß das Cytochrom-Cytochromoxydasesystem vorwiegend *in* den Epithelien und die Fermentsysteme mit stark negativem Redoxpotential *um* die Epithelien dicht subcapsulär und in der Rinde lokalisiert sind.

2. Mit Fermentinhibitoren, von denen bekannt ist, daß sie die normale Salz- und Wasserverteilung verändern können, kann auch die Farbstoffentwicklung beeinträchtigt werden. Äthylurethan, Monojodessigsäure und Dinitrophenol schwächen nur die TTC-Reaktion und Kaliumcyanid die Färbung mit PPD.

Literatur.

[1] Allen, T. D., and V. M. Benson: J. Amer. Med. Assoc. **105**, 795 (1935). — [2] Boardmann, W. W.: J. Amer. Med. Assoc. **105**, 108 (1935). — [3] Cogan, D. G., and F. C.: J. Amer. Med. Assoc. **105**, 794 (1935). — [4] Flexner, L. B., and R. D. Stiehler: J. of Biol. Chem. **126**, 603, 619 (1938). — [5] Flexner, L. B.: J. of Biol. Chem. **131**, 703 (1939). — [6] Friedenwald, J. S., u. R. D. Stiehler: Arch. Ophth. **20**, 761 (1938). — [7] Harris, J. E., and L. B. Gehrsitz: Proc. Ass. f. R. in Ophth. XIX,131 (1950). — [8] Kinsey, V. E., u. Ch. E. Frohman: Arch. Ophth. **46**, 536 (1951). — [9] Kuhn, R., u. D. Jerchel: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 941, 949 (1941). — [10] Lazar, N. K.: J. Amer. Med. Assoc. **105**, 794 (1935). — [11] Maizels, M.: J. of Physiol. **112**, 59 (1951). — [12] v. Muralt, A.: Prakt. Physiol. Berlin 1944. — [13] Pau, H.: Graefes Arch. **151**, 352 (1951); **152**, 539 (1952). — [14] Pau, H., u. W. Rummel: Pflügers Arch. **254**, 281 (1951). — [15] Rauh, W.: Graefes Arch. **130**, 213 (1933). — [16] Robinson, J. R.: Nature **166**, 989 (1950). — [17] Rosenberg, Th., and W. Wilbrandt: Cytology **1**, 65 (1952). — [18] Rummel, W.: Ref. Kolloqu. d. Dtsch. Physiol. Chem. Ges. Mosbach 1950 [Naturwissenschaft **40**, 277 (1953)]. — [19] Schall, E.: Graefes Arch. **115**, 666 (1925). — [20] Horner, W. D.: J. Amer. Assoc. Med. **105**, 108 (1935).

Doz. Dr. Hans Pau, Augenklinik der med. Akademie Düsseldorf.
Doz. Dr. Walter Rummel, Pharmakologisches Institut der med. Akademie Düsseldorf.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 355—363 (1953).

Aus dem Pathologischen Institut der Krankenanstalten in Bethel bei Bielefeld (Leiter: Dr. med. habil. E. Roesner) und der pharmakologischen Abteilung der Nordmark-Werke GmbH. Hamburg, Werk Uetersen/Holstein.

Die Schutzwirkung eines Leberhydrolysates (Prohepar) auf den Arsenobenzolschaden von Leber und Niere.

Von

H. P. Wachter und G. Stille.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1953.)

Im Verlaufe von Untersuchungen zur Frage des sogenannten „Leberparenchymfaktors" in Leberhydrolysaten wurde der Einfluß von Prohepar auf die Arsenobenzolvergiftung von Ratten geprüft.

200 weibliche Ratten einheitlicher Zucht im Gewicht von 80—100 g erhielten in einem Überlebensversuch von 12 Tagen in zweitägigen Abständen 0,1 mg/g eines Arsenobenzolpräparates* unter die Nackenhaut injiziert. Die Kost bestand eine Woche vor und während des Versuches aus Weizen, Hafer, Hanf und Sonnenblumenkernen in beliebiger Menge. Prohepar (PR) wurde täglich entweder s. c., i. v. oder p. o. in verschiedener Dosierung verabreicht.

Die Ergebnisse dieses Überlebensversuches wurden bereits andernorts ausführlich besprochen[8].

Nach den Angaben des Schrifttums ruft die Arsenobenzolvergiftung Nieren- und Leberveränderungen hervor[1, 2, 4, 5]. Im folgenden sollen nun die feingeweblichen Befunde dieser Organe von vergifteten unbehandelten und PR-behandelten Tieren unserer Versuchsreihe beschrieben werden, und zwar standen die Tierorgane aus 3 Gruppen zur Verfügung:

1. Von vergifteten Tieren ohne PR-Behandlung (Kontrollen),

2. von vergifteten Tieren mit intravenösen PR-Gaben von 0,5 cm^3 der 10%igen Lösung,

3. von vergifteten Tieren mit intravenösen PR-Gaben von 0,5 cm^3 der 5%igen Lösung, jeweils bezogen auf den Trockengehalt des Präparates.

Methode.

Fixierung in 4%iger Formalinlösung und zum Glykogennachweis in abs. Alkohol. Einbettung in Paraffin.

Zum Studium des allgemeinen Organverhaltens wurden von fast allen Tieren Leber- und Nierenschnitte mit Hämatoxylin-Eosin und nach van Gieson gefärbt. Ferner wurden Gefrierschnitte angefertigt und mit Scharlachrot auf Fettsubstanzen untersucht. Der Glykogennachweis erfolgte nach Best und nach Nilsen, Okkels und Stockholm. Zur Mitochondriendarstellung wurden die Organstücke nach Kyjono vorbehandelt und nach Regaud gefärbt (Methoden nach [6]).

* Neosalvarsan (offic) = Neoarsphenaminum (PJ).

Befunde.

I. Nierenbefunde.

Nach den Angaben des Schrifttums[4] steht bei der Arsenobenzolvergiftung die Nierenschädigung im Vordergrund der Organveränderungen. Die Beschreibungen der verschiedenen Autoren decken sich weitgehend.

*Glomerulus*veränderungen sind selten und bestehen in Abschilferung und Wucherung der Glomerulusendothelien. Am *Kanälchen*system sind die Schädigungen dagegen viel schwerer und fast immer vorhanden. Anfangs zeigt sich eine Verfettung der Kanälchenepithelien, die bald weitgehend nekrotisch werden, nicht selten Verkalkungen in den nekrotischen Anteilen erkennen lassen und keine Neigung zur Regeneration aufweisen. Diese schweren Veränderungen finden sich besonders ausgeprägt im Bereich der Hauptstücke und der Schleifen. Es besteht eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem Bilde der Sublimatniere.

Kontrolltiere: Unsere Befunde an den *Kontrolltieren*, die während der ersten 5 Tage des Versuches starben, ergaben im ganzen das gleiche Bild (17 Tiere — Abb. 1):

Die *Capillaren* — auch der *Glomeruli* — sind fast immer weit und blutreich. An den Glomeruli finden sich in der Hälfte der Schnitte keine weiteren Veränderungen. Die andere Hälfte zeigt meist geringere Vergrößerung des Glomerulus, in 4 Schnitten unbedeutende, zellfreie Exsudate im Kapselraum und in 2 Fällen vorwiegend fleckförmige Kernvermehrung.

Die *Hauptstücke* und *Schleifen* weisen an ihrem Epithel die schwersten Veränderungen auf. Konstant ist die fast vollständige Nekrose an den absteigenden Schleifenschenkeln und am Ende der Hauptstücke. Benachbarte Abschnitte sind jedoch häufig mitbeteiligt. In den schwersten Fällen erstrecken sich die Nekrosen vom Abgang der Kanälchen aus dem Kapselraum bis zu den Sammelröhren, wo wir in mehreren Fällen verstreut noch kleine Nekrosen finden. Die Kanälchenteile, die an die Nekrosen anschließen, lassen ebenfalls noch schwere Epithelschädigungen erkennen: Die Kerne sind vergrößert und mangelhaft färbbar. Der Protoplasmaleib ist vergrößert und aufgelockert. Der Zellverband verliert mehr oder weniger seinen Zusammenhalt. Diese Zellschädigungen erstrecken sich bis weit in die Sammelröhren. Zellige Reaktionen fehlen überall.

Fett in nennenswerten Mengen war in keinem Falle und an keiner Stelle nachzuweisen.

Da die Vermutung bestand, daß PR an den nucleotidhaltigen Fermenten der Mitochondrien angreift[8], richteten wir auf diese unsere besondere Aufmerksamkeit.

In allen Fällen ist bei den Kontrolltieren die Zahl der *Mitochondrien* stark vermindert. Meist zeigen sie sich als kleinste Kugeln diffus über den Zell-Leib verstreut, hin und wieder auch als staubförmige Teilchen an der Basis und dem freien Rande der Zellen. Die Menge nimmt vom Beginn der Tubuli zu den Nekrosen hin schnell an Zahl ab. In den Anfangsabschnitten bilden sie vereinzelt auch größere Klumpen. In den Sammelröhren fehlen die Mitochondrien.

Das am 11. Versuchstag spontan gestorbene Tier zeigte außer Mitochondrienveränderungen und einzelnen homogenen Zylindern in allen

Kanälchenabschnitten keine wesentlichen Veränderungen, insbesondere fehlten die Nekrosen.

Die Zahl der *Mitochondrien* ist im ganzen deutlich herabgesetzt, jedoch abschnittsweise stark wechselnd. Auch ihre Größe und Form ist großen Schwankungen unterworfen. Eine besondere Anordnung läßt sich jedoch nicht erkennen.

Die beiden Tiere, die den 12. Versuchstag überlebten und dann getötet worden waren, zeigten — von einzelnen homogenen Zylindern in den Sammelröhren abgesehen — in allen geprüften Einzelheiten durch-

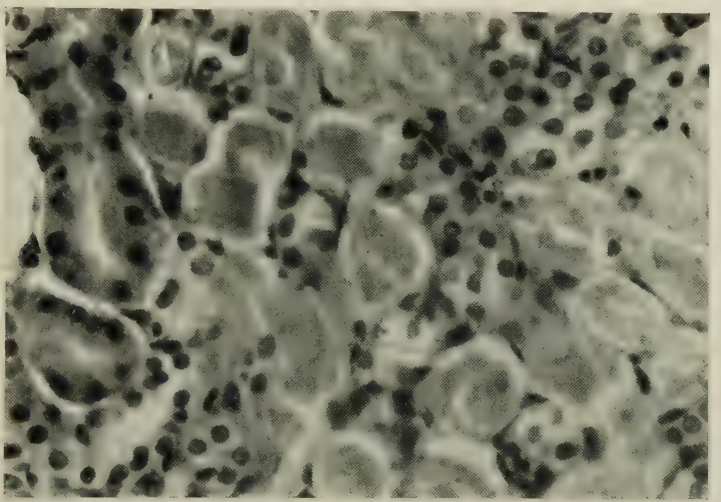


Abb. 1. Niere von arsenobenzolvergifteter, sonst unbehandelter Ratte. Tod am 3. Versuchstag: Schwere, nekrotisierende Nephrose. Paraffinschnitt, H. E.-Färbung; Vergrößerung ca. 1:600.

aus normales Gewebsverhalten. Auch die Mitochondrien waren nicht krankhaft verändert.

Mit PR behandelte Tiere: Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den Nieren der Tiere, die PR erhalten hatten. Man konnte dies ja schon nach der wesentlich längeren Überlebenszeit erwarten. Hatten doch von je 20 Tieren bei den Kontrollen nur 2 den 12tägigen Versuch überlebt, während es bei den mit 5%iger PR-Lösung behandelten Tieren 15 und bei den mit 10%iger Lösung behandelten 11 Tiere waren.

1. Prohepar-Behandlung mit 5%iger Lösung.

Am 5. Tag starben 2 Tiere. Ihre Nieren zeigen wie die der unbehandelten Kontrolltiere weite, blutreiche *Capillaren* und *Glomeruli*.

In allen *Kanälchen*abschnitten mit Ausnahme der Sammelröhren finden sich einzelne Nekrosen. Das übrige Kanälchenepithel ist überwiegend aufgelockert und zeigt ein schaumig-vacuoliges Protoplasma bei im ganzen regelrechtem Kernverhalten. In den Kanälchenlumina liegt reichlich fädig-bröckliges Exsudat. Am Epithel der Sammelröhren sind keine besonderen Veränderungen nachzuweisen. In ihren Lumina liegen reichlich homogene Zylinder.

Mitochondrien können nur in den Anfangsteilen des Kanälchensystems nachgewiesen werden, dort jedoch in größerer Zahl.

Je 1 Tier starb am 8., 9. und 10. Tag. Die Befunde sind sehr ähnlich:

Die *Glomeruli* machen einen verquollenen Eindruck. Sie sind auffallend groß, so daß sie den Kapselraum ganz ausfüllen. Die Kerne sind nicht vermehrt und die Gefäße sehr eng.

Die *Kanälchen*epithelien zeigen wieder an den Hauptstücken und Schleifen die wesentlichen Befunde: Im allgemeinen große, schaumig-vacuolige Zellen mit häufig schlechter Kernfärbbarkeit und beim 8-Tage-Tier größere Nekrosen. Der Zell-

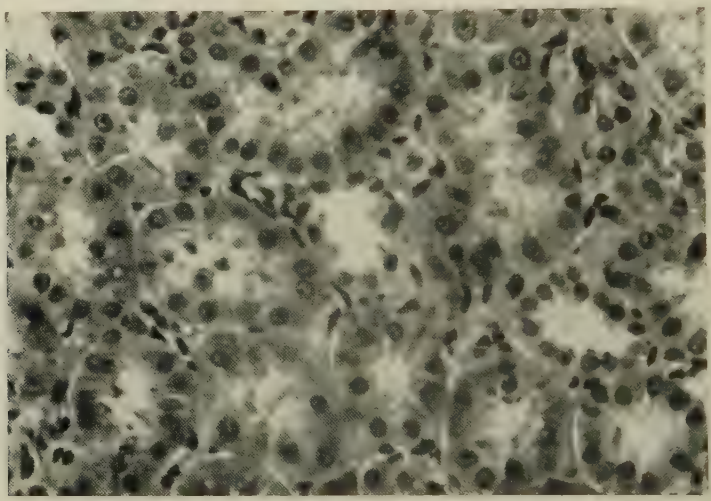


Abb. 2. Niere von arsenobenzolvergifteter Ratte bei Behandlung mit 0,5 cm³ 5%igem Prohepar i. v. Getötet am 12. Versuchstag. Paraffinschnitt, H. E.-Färbung; Vergrößerung ca. 1:600.

verband ist häufig aufgelockert, und in den Kanälchen liegen abgestoßene Zellen und fädigkörniges Exsudat.

In den Sammelröhren trifft man häufiger Zylinder an.

Die *Mitochondrien* fehlen überall, nur in den Anfangsteilen des Tubulussystems ist eine geringere Zahl vorhanden.

Anders ist das Bild bei den 15 Tieren, die den 12. Versuchstag überlebten; von ihnen konnten wir 12 untersuchen (Abb. 2).

Glomeruli wie vorher.

Das *Kanälchen*system verhält sich unterschiedlich. Die Hälfte der Fälle zeigt ein normales Gewebsbild. Die andere Hälfte besitzt häufiger größere, aufgelockerte Epithelien in wechselnder Ausdehnung. Vereinzelt können wir verstreut kleine Nekrosen beobachten, die öfter diffuse Kalkeinlagerungen aufweisen. Hier beginnen meist vom Rande her Regenerationen. Hin und wieder trifft man auch auf Gewebsabschnitte mit großen, auffallend hellen Zellen. In einem Falle liegt auch etwas Exsudat in den Kanälchenlumina. Die Tubuli contorti II. ordinis und die Tubuli contorti I. ordinis sind im wesentlichen unverändert.

Zeigten die vorher beschriebenen Fälle, abgesehen von 2 überlebenden Kontrolltieren, die Mitochondrien in den Zellen ungeordnet und kugelig, so nähern sich bei diesen Tieren die Mitochondrienverhältnisse weitgehend der Norm.

Zwar ist die Zahl der *Mitochondrien* im ganzen reduziert, doch fehlen sie nirgends völlig. Immer sind ganze Kanälchensysteme normal, meist auch die Anfangsteile. Die Mitochondrienverminderung erscheint durchaus fleckförmig, wobei die Ausdehnung dieser Bezirke von Fall zu Fall wechselt. Im ganzen ist aber die Trennung in eine basale und eine lumennahe Mitochondrienzone erhalten. Auch finden sich hier neben kugeligen fädige Formen.

2. Prohepar-Behandlung mit 10%iger Lösung.

Aus dieser Gruppe starben am 3. Tag 2, am 5. Tag 4 Tiere und am 6., 10. und 12. Tag je 1 Tier. 11 Tiere überlebten 12 Versuchstage.

Die Befunde unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der vorhergehenden Gruppe.

II. Leberbefunde.

Die Leberbefunde des vorliegenden Materials sind allgemein weniger eindrucksvoll als die Nierenveränderungen.

Die Leberschnitte der vergifteten Kontrolltiere, die während des Versuches starben, sind sehr gleichförmig. Dabei spielt es keine Rolle, ob die Tiere in den ersten Tagen oder erst am 11. Tag starben.

Das *Gewebe* ist überall blutreich, meist mit weiten Venen. Nekrosen finden sich in den 18 Leberschnitten nur in 2 Fällen. Einmal sieht man eine kleine Arterie mit nekrotischer Wand, umgeben von einem dichten Rundzelleninfiltrat.

Der Dissoziationsgrad der Leberzellen wechselt, doch hält sich die Dissoziation durchweg in mäßigen Grenzen.

In 2 Fällen ist das *Leberzellprotoplasma* homogen, die Zellen selbst sind klein. Meist findet man hingegen eine deutliche Vergrößerung der Zellen mit schaumigem Protoplasma, in 2 Fällen mit deutlicher Vacuolenbildung in der Läppchenperipherie.

Ausgeprägter sind die *Kern*veränderungen. Die Größe der Kerne wechselt erheblich. Dabei zeigen die kleinen Kerne deutliche Pyknosen, die großen Chromatinverarmung. Vereinzelt kommen auch Klumpenbildungen im Kernchromatin vor. An etwa 10% der Zellkerne bemerkt man eckige Begrenzungen gegen das Protoplasma.

Die *Mitochondrien* sind durchweg kugelig und teils reichlicher, teils weniger reichlich vorhanden. In den Fällen mit vermindertem Mitochondriengehalt konzentrieren sie sich überwiegend in einzelnen Zellen.

Fett vermißt man fast ganz. Vereinzelt liegt es in Form einer fein- bis mitteltropfigen Verfettung in geringen Mengen in der Acinusperipherie.

Glykogen ist nicht nachweisbar.

Die Tiere, die mit 5%iger Proheparlösung behandelt und während des Versuches gestorben waren, weisen die gleichen Veränderungen auf, wie sie oben bei den vorzeitig gestorbenen Kontrolltieren beschrieben sind. Nur die Zellkerne zeigen insofern Abweichungen von diesem Verhalten, als sie ganz überwiegend ein normales Aussehen besitzen.

Die überlebenden 12 untersuchten Tiere zeigen in 4 Fällen keine krankhaften Störungen.

Die übrigen 8 Tiere lassen ein gleichmäßiges, intracelluläres Ödem mit schaumigem *Protoplasma*, vergrößertem Zelleib, teilweise auch deutliche Vacuolenbildung erkennen. Die *Zellkerne* sind im allgemeinen normal. Mehr als die Hälfte des untersuchten Materials zeigt kleine Nekrosen, meist mit deutlicher zelliger Reaktion.

In 8 Fällen konnte das Verhalten der *Mitochondrien* geprüft werden. Ihre Zahl war bei 3 Tieren regelrecht. Bei 3 weiteren war sie diffus geringfügig vermindert. Nur 2 Fälle zeigten eine deutliche Abnahme.

Fett liegt vereinzelt in feinsten Tröpfchen in der Azinusperipherie.

Der *Glykogengehalt* zeigt stärkere Schwankungen, doch fehlt Glykogen in keinem Falle.

Die mit 10%iger PR-Lösung behandelten und im Versuch gestorbenen Tiere zeigen die gleichen Zell- und Gewebsveränderungen, wie die vorzeitig gestorbenen Kontrolltiere.

Die überlebenden Tiere wiesen andere Leberveränderungen auf. Von ihnen konnten 9 untersucht werden.

Fast ausnahmslos ist das *Protoplasma* durch intracelluläres Ödem schaumig, ja zumeist vacuolig aufgelockert. Der Zelleib ist dadurch sehr vergrößert. Die vacuoligen Veränderungen sind in der Peripherie deutlicher als im Zentrum. Der Dissoziationsgrad der Zellen ist mäßig.

Die *Kernveränderungen* zeigen sich hin und wieder in wechselnder Größe, ganz vereinzelt auch in Chromatinarmut und eckiger Begrenzung der Zellkerne.

Nekrosen mit zelliger Reaktion finden sich in über der Hälfte des Untersuchungsmaterials.

Die *Mitochondrien* sind in 6 Fällen reichlich als fädige Gebilde nachweisbar, ein Verhalten, das nahezu normal ist. In 2 Fällen ist ihre Zahl mäßig herabgesetzt, dabei sind die Mitochondrien in Form und Größe stark unterschiedlich. In einem Falle bestand eine deutliche Verminderung der Zahl. Bei den 3 letzten Fällen sind die Mitochondrien kugelig. Sie liegen zahlreicher in der Acinusperipherie als im Zentrum.

Krankhafte *Fett*ablagerungen können nicht nachgewiesen werden.

Der Glykogengehalt ist sehr wechselnd von reichlich bis sehr wenig. In einem Falle liegt das Glykogen sehr reichlich in Form von Schollen in den Protoplasmavacuolen.

Ergebnisse.

Die Sterbeziffern im Überlebensversuch hatten eine Wirksamkeit der PR-Behandlung bei der experimentellen Arsenobenzolvergiftung gezeigt, die fast in allen Applikationsarten und Dosierungen außerhalb des statistischen Fehlers liegt[8].

Noch eindeutiger ist beinahe das Ergebnis der histologischen Untersuchungen. An den Nieren der während des Versuches gestorbenen Kontrolltiere sind gewöhnlich die Tubulusabschnitte am Übergang von den Hauptstücken zu den Schleifen fast vollständig nekrotisiert (Abb. 1). Die Nekrosen betreffen meist größere Kanälchenanteile, ja, sie können den gesamten Tubulusapparat bis in die Sammelröhren hinein ergreifen.

In keinem Falle finden wir *derartige* Nekrosen bei den PR behandelten Tieren (Abb. 2). Zwar zeigen sich bei den mit 10%igem PR behandelten Ratten Nekrosen und besonders dann, wenn der Tod im Verlaufe des

Versuches eingetreten war, zudem aber auch bei 50% der überlebenden Tiere. Die Nekrosen sind jedoch mehr fleckförmig, so daß einzelne Kanälchensysteme ganz erhalten sind. Bei den überlebenden, mit 5%-igem PR behandelten Tieren findet man nur vereinzelt kleinste Nekrosen mit zelliger Reaktion und beginnender Regeneration. Leichtere Epithelveränderungen sind dagegen auch bei den PR-behandelten Tieren häufig: Auflockerungen des Protoplasmas bis zur Vakuolisierung, verminderte Kernfärbbarkeit und Lockerung des Zellverbandes besonders bei den überlebenden Tieren, die mit 10%iger PR-Lösung behandelt worden waren.

Nach den Mitochondrien-Befunden möchten wir annehmen, daß in dieser Gruppe die Zellveränderungen nicht immer nekrobiotische Vorgänge anzeigen.

Die Leberbefunde bestärken uns in dieser Auffassung. Die mit 10%iger PR-Lösung behandelten Tiere zeigen ganz überwiegend ein ödematöses Protoplasma bis zur Vacuolenbildung im Zelleib. Glykogen und Mitochondrien bleiben aber nachweisbar. Daraus möchten wir schließen, daß diese Protoplasmaveränderungen auch in den Nieren besondere Funktionszustände darstellen. Man muß wohl am ehesten an eine Reizung denken. Die Veränderungen finden sich in der 5%igen Gruppe in wesentlich geringerem Maße, so daß die Annahme gerechtfertigt erscheint, daß die hohe PR-Dosis für diese Zellbilder verantwortlich zu machen ist.

Als Todesursache der während des Versuchs gestorbenen Kontrolltiere müssen sicherlich die schweren Nierenveränderungen angenommen werden. Dies läßt sich bei den gestorbenen PR-behandelten Tieren nicht mit gleicher Sicherheit entscheiden, wenn es auch bei einer großen Zahl der Fall gewesen sein wird. Keines der überlebenden Tiere zeigt Nierenveränderungen von solchem Ausmaß und solcher Art, daß von diesem Organ aus ein baldiger Tod zu erwarten gewesen wäre.

Die im PR enthaltenen Substanzen entfalten also bei der Arsenobenzolvergiftung eine erhebliche Schutzkraft auf die Nieren.

Die beiden funktionellen Anteile der Niere zeigen offensichtlich ein verschiedenes Verhalten. Nach dem Schrifttum wirkt Arsenobenzol in einem Teil der Fälle vergiftend sowohl auf Epithelien als auch auf Glomeruli. Wir fanden bei den Kontrolltieren, die innerhalb der ersten 5 Tage gestorben waren, trotz ihrer schweren Tubulusschädigung an den Glomeruli außer Blutfülle, vereinzelten, geringen, fleckförmigen Zellvermehrungen und einzelnen Kapselexsudaten nichts Wesentliches. Nach 5—6 Tagen entwickelten sich deutliche Schädigungen der Glomeruli. Die Wirkung beginnt mit Blutfülle der Capillaren; später zeigen sich dann Aufquellungen der Gefäßknäuel. Auf diese Veränderung hat PR anscheinend keinen Einfluß.

Möglicherweise lassen sich so auch die Befunde erklären, daß in einem verlängerten Überlebensversuch der PR-Schutz um den 30. Tag durchbrochen wird[8].

Man kann ja erwarten, daß die Gefäß-Schädigung bis dahin solche Werte erreicht hat, daß der Tod nun hierdurch veranlaßt wird.

In zahlreichen Leber- und Nierenzellen finden sich bei den vergifteten Kontrolltieren Kernschädigungen, die sich in wechselnder Kernfärbbarkeit und -größe, sowie in Entrundungen zeigen. Unter den behandelten Tieren finden sie sich nur bei einem kleinen Teil der Tiere, die während des Versuches starben, und zwar in geringfügigem Ausmaß. In den übrigen Fällen sind die Kerne unauffällig, wobei sich nur in der Gruppe der mit 10%iger PR-Lösung behandelten Tiere wiederum Ausnahmen zeigen (Überdosierung?).

Es erscheint uns danach histologisch gesichert, daß das PR einen Angriffspunkt am Kernapparat der Zelle besitzt, ein Überangebot des Leberhydrolysates aber kernschädigend wirken kann.

Zahl, Form und Anordnung der Mitochondrien erfahren unter der Wirkung der Arsenobenzolvergiftung, besonders in der Niere, gleich nach Beginn der Vergiftung deutliche Veränderungen. Die Zahl nimmt stark ab, es finden sich fast ausschließlich Kugelformen, und die Anordnung ist völlig unregelmäßig. Im Verlauf einiger Tage kommt es zu einem fast vollständigen Schwund. Dagegen zeigen die behandelten PR-Tiere häufig einigermaßen ungestörte Verhältnisse, wiederum abgesehen von denen mit zu hoher Dosierung. Hier wurden ebenfalls Verminderung der Zahl und vor allem auch Störungen in der Anordnung beobachtet.

In der Leber tritt die Mitochondrienschädigung erst später stärker in Erscheinung. Die in den ersten Tagen gestorbenen PR-Tiere zeigen wie die Kontrolltiere aus dieser Zeit noch einen reichlicheren Gehalt an Mitochondrien. PR in 5%iger Gabe verhindert häufig eine Abnahme der Mitochondrienzahl, während auch hier die 10%ige Dosis deutlich eine andere Wirkung besitzt. In diesem Falle ist ihre Anzahl nämlich in den Läppchenzentren durchweg vermindert, während Mitochondrien in der Peripherie reichlicher vorhanden sind.

Die nach dem histologischen Befund offensichtliche Schutzwirkung von PR auf Zellkerne und Mitochondrien, nucleoproteidhaltige Zellelemente, wirft neues Licht auf die von Schwietzer[7] geäußerte Vermutung, daß die Proheparwirkung in einer Aktivierung nucleoproteidhaltiger Zellfermente und in einer Bereitstellung von Kernbausteinen bestehe. Die elektrophoretische Untersuchung hatte nämlich einen bemerkenswerten Gehalt des PR an Purinen und Pyrimidinen ergeben.

In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, daß es sich nach amerikanischen Untersuchungen bei den Mitochondrien um ribonucleinsäurereiche Zellelemente handelt, die Träger wichtiger Fermentsysteme, u. a. der Zyclophorase, sind. Bemerkenswert ist, daß in vitro unter Einwirkung von Arsenverbindungen der Nucleotidgehalt der Zyclophorase deutlich abnimmt und die Aktivität dieses Fermentsystems nach Arsenvergiftung in vitro durch Zugabe von Nucleotiden wieder hergestellt werden kann[3]. Möglicherweise geht auch in vivo die Schutzwirkung des purin- und pyrimidinreichen Leberhydrolysates bei Arsenobenzolvergiftung auf Ersatz oder Aktivierung geschädigter nucleotidhaltiger Zellelemente zurück.

Zusammenfassung.

Die vorliegende histologische Untersuchung der Organe von arsenobenzolvergifteten, unbehandelten und proheparbehandelten Tieren ergab folgendes:

1. Das verwendete Leberhydrolysat (Prohepar) wirkt bei der experimentellen Arsenobenzolvergiftung von Ratten nicht nur durch eine weitgehende Verhinderung der Leberschädigung, vielmehr verhütet es ebenso, wenn nicht noch auffälliger, die sonst sehr schweren Schädigungen an den Tubulusepithelien der Nieren.

2. Die Dosierung spielt bei dem Organschutz eine hervorragende Rolle; eine zu hohe Dosierung führt ihrerseits zu Schädigungen.

3. Prohepar greift vermutlich an Zellkernen und Mitochondrien, den nucleoproteidhaltigen Zellelementen, an und entfaltet hier seine Schutzfunktionen. Andererseits äußert sich die Überdosierung auch in Kern- und Mitochondrienschädigung.

Wir danken Herrn Dr. Kretzschmar für seine Hilfe bei der Anfertigung der Mikroaufnahmen.

Literatur.

[1] Fahr, Th.: Hdb. Path. Anat. Bd. VI, 1. S. 221ff. — [2] Herzog, G.: Münch. med. Wschr. **1918**, 29. — [3] Huennekens and Green: Arch. of Biochem. **27**, 428 (1950). — [4] Mucha u. Ketron: Wien. med. Wschr. **1913**, 2379. — [5] Petri, R.: Pathologie der Vergiftungen in Hdb. Path. Anat. — [6] Romeis, B.: Mikroskopische Technik, S. 231ff. München 1948. — [7] Schwietzer: Vortrag auf dem Therapiekongreß Karslruhe 1952. — [8] Stille, G.: Arzneimittelforschg. **3**, H. 3, S. 127 (1953).

Dr. H. P. Wachter, Bethel b. Bielefeld, Patholog. Institut.
Dr. Günther Stille, Uetersen/Holstein, Nordmark-Werke GmbH., Pharmakolog. Abtlg.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 364—374 (1953).

Aus dem Pathologischen Institut der Akademie für medizinische Forschung und Fortbildung der Justus Liebig-Hochschule Gießen (Direktor: Prof. Dr. Gg. Herzog).

Untersuchungen mit dem Reduktionsindikator* Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)** an Organen des erwachsenen Meerschweinchens unter besonderer Berücksichtigung des alloxangeschädigten Pankreas.

Von

W. Knoth.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Februar 1953.)

In zahlreichen neueren Mitteilungen werden Versuche mit dem Reduktionsindicator 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid erwähnt, die zum Teil wertvolle Erkenntnisse in histochemischer Hinsicht vermitteln konnten.

Nachdem durch R. Kuhn u. Jerschel die Bedeutung des Tetrazoliumsalzes für die Biologie in grundlegenden Arbeiten herausgestellt worden war, haben Lakon, Kuhn und Waugh an pflanzlichem, Becker u. Quadbeck, Mattson, Jensen u. Dutcher, Meyer-Arendt, Schümmelfeder u. a. an tierischem Gewebe Versuche mit dieser Indicatorensubstanz unternommen. Neben der qualitativen Auswertung haben u. a. Black u. Kleiner, Fleckenstein, Berg, Gayer und Schönig, Siegert, Brückel u. Ried, Stüttgen die Reduktionserscheinungen durch Ausschütteln des roten Formazans z. B., mit Methylalkohol quantitativ photometrisch bestimmt und auf diese Weise eine exaktere Beurteilung der Wirkung dehydrierender Fermentsysteme erreicht. Die Versuche von Fleckenstein und Mitarbeitern verdienen dabei besondere Beachtung, da sie am Beispiel der Bienen- und Schlangengifte wertvolle Beiträge zum Mechanismus der Giftwirkung liefern konnten (vgl. auch Schmitz). Doerr[+] und v. Hayek[++] haben sich vor allem Untersuchungen an menschlichen und tierischen Organen gewidmet, dabei das normale Verhalten einzelner Organe und Organteile gegenüber Tetrazoliumsalz beschrieben und damit die Grundlagen zu weiteren experimentellen Untersuchungen gelegt.

Im Rahmen eigener Versuche über die Anwendbarkeit des Triphenyltetrazoliumchlorids (TTC) in der Gewebezüchtung[+++] haben wir systematisch zahlreiche Organe und Gewebe von erwachsenen Meerschweinchen einer eingehenden Prüfung mit dem Kuhnschen Reduktionsindicator unterzogen. Es lag uns daran vor allem das Bindegewebe erwachsener

* Die Untersuchungen sind mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

** Triphenyltetrazoliumchlorid wurde von „Bayer" Leverkusen bezogen.

[+] Versuchstiere: Katzen und Kaninchen.

[++] Versuchstiere: Meerschweinchen.

[+++] Z. Krebsforsch. im Druck.

Tiere in seinen reduktiven Leistungen genauer zu kontrollieren, um so einen Vergleich zwischen dem stationären und dem wachsenden Bindegewebe in der Gewebekultur zu erbringen. Dazu hatte das Studium der bisherigen Veröffentlichungen ergeben, daß über einzelne Organe detaillierte mikroskopische Angaben fehlten, die Frage des Reduktionsortes innerhalb der Zelle ungeklärt war und hinsichtlich des normalen und alloxangeschädigten Pankreas nach eigenen Vorversuchen interessante Ergebnisse erwartet werden konnten.

Material und Methodik.

Meerschweinchen erhielten in Narkose (Äther) bis zu 5 cm³ einer 1—3%igen TTC-Lösung (in physiologischer Kochsalzlösung, p_H 7,2) intracardial in die linke Herzkammer injiziert. Die Organe dieser vorbehandelten Tiere wurden teils gleich fixiert und teils trotz Injektion noch zusätzlich für 2 Std in eine 1%ige TTC-Lösung gebracht. Darüber hinaus kamen Organteile von Tieren, die keine intracardialen Injektionen bekommen hatten, lebensfrisch in eine 1%ige TTC-Lösung und nach 2 Std in 10% Formalin. Von den Organen legten wir ungefärbte Gefrierschnitte an und solche, die nach der TTC-Behandlung mit Hämatoxylin zur besseren Zell- und Gewebsorientierung gefärbt wurden. Zum Eindecken der Präparate verwandten wir Glycerin-Gelatine. Die zuletzt genannte Nachfärbung mit Hämatoxylin gab uns die besten Ergebnisse. Die Formazankristalle bleiben an Zahl, Gestalt und Farbintensität völlig unverändert. Das Phasenkontrastmikroskop war uns zur Beurteilung ungefärbter Präparate eine gute Hilfe.

Ergebnisse.

Bei der intracardialen Injektion einer 3%igen TTC-Lösung am ungeöffneten Thorax stellten die Versuchstiere schon nach Verabfolgung von etwa 1 cm³ TTC-Lösung ihre Atemexkursionen ein. Der Herzschlag blieb länger, etwa 1—2 min lang, fühlbar. Offenbar besitzt das TTC eine hohe Giftigkeit, die namentlich das Atemzentrum sofort lähmt. Akute Lungenblähung, interstitielles Lungenemphysem und Ausbleiben der Blutgerinnung lassen auf ein zentrales Geschehen schließen.

Hinsichtlich der makroskopisch sichtbaren Rotfärbung der einzelnen Meerschweinchenorgane stimmten unsere Befunde mit denjenigen von Doerr und v. Hayek, sowie von Becker u. Quadbeck (Gehirn und Rückenmark) weitgehendst überein.

Die mikroskopischen Untersuchungen, die nach etwa 24stündiger Formolfixierung vorgenommen wurden, gaben zum Teil enttäuschende, zum Teil aber auch sehr überraschende Ergebnisse gegenüber der makroskopischen Beurteilung. Es wurden folgende Organe bzw. Gewebe histologisch ausgewertet: Lippe, Zunge, Oesophagus, Magen, Dünndarm, Dickdarm, Trachea, Lunge, Herz, Skeletmuskulatur, Achilles-Sehne, Niere, Nebenniere, Uterus, Hoden, Leber, Speicheldrüse, Pankreas, Milz und Lymphknoten.

Artefizielle Kristallokalisationen waren durch die Verschleppung mit dem Mikrotommesser hie und da zustande gekommen, ließen sich aber durch die Lagerung in Schnittrichtung meistens leicht als solche erkennen. Bei Organteilen von Herz, Leber, Niere und Milz kam es an den nur in TTC-Lösung eingelegten Stückchen zu seltsamen Randphänomen dergestalt, daß zunächst ein sehr schmaler äußerster Randsaum des Organschnittes kristallfrei blieb, darauf eine *dicht* mit Formazankristallen besetzte Zone folgte, die keine Beziehungen zu irgendwelchen Gewebsstrukturen erkennen ließ. Vor einer Deutung in zellphysiologischer Hinsicht

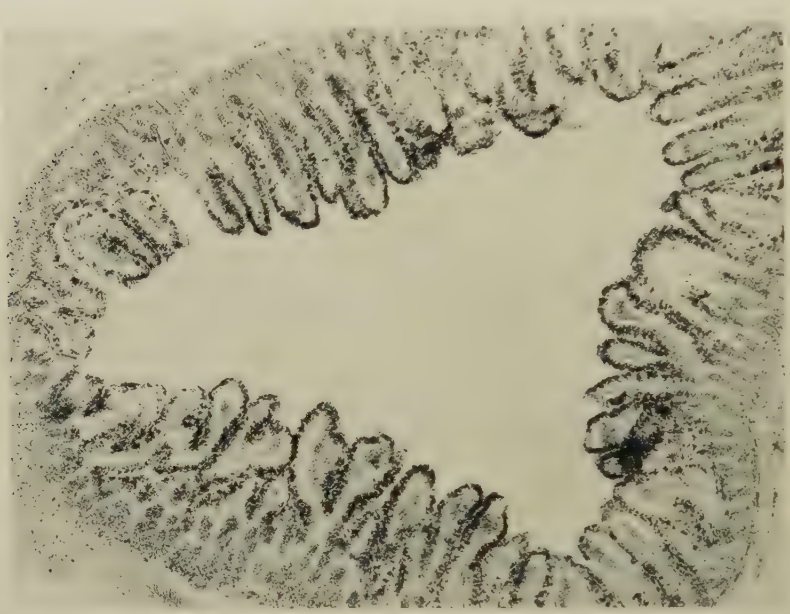


Abb. 1. Dünndarm. TTC-Reaktion. Photo: Vergrößerung 30fach.

solcher Kristallablagerungen muß gewarnt werden. Wir möchten zur Erklärung dieses Phänomens annehmen, daß die geringe Durchdringungsfähigkeit des Triphenyltetrazoliumchlorids (siehe auch Doerr), vor allem in den randnahen Zonen ein Überangebot gelingen läßt und daß der ganz nach außen gelegene kristallfreie Gewebssaum möglicherweise durch die Einwirkung des Luftsauerstoffs in seiner reduktiven Leistung gehemmt wird, da die sofort nach dem Tode einsetzende Autolyse zu einer schnellen Inaktivierung der dehydrierenden Fermente führt. Jedenfalls waren nach intracardialen Injektionen an den behandelten Organen diese Randphänomene nie zu finden.

Die nun folgende Besprechung der mikroskopischen Befunde beschränken wir auf einzelne Organe, an denen wir besondere Kristallokalisationen beobachten konnten. Es wird dabei zusammenfassend über nur in TTC eingelegte, nur durch intracardiale Injektionen behandelte und solche, die sowohl injiziert als auch eingelegt waren, berichtet.

Dünndarm: Dichte Besetzung durch mittelgroße Kristalle im Bereich des Oberflächenepithels der Schleimhaut (siehe Abb. 1). Dichtliegende, aber nur kleine Konkremente in den LIEBERKÜHNschen Drüsen. Plexus myentericus deutlich durch rote Formazankristalle markiert.

Skeletmuskulatur: Im allgemeinen sehr starke Reduktionserscheinungen mit Ablagerung großer verzweigter Formazankristalle im Bereich der quergestreiften Muskelfasern. 3 Ablagerungsarten sind vor allem zu

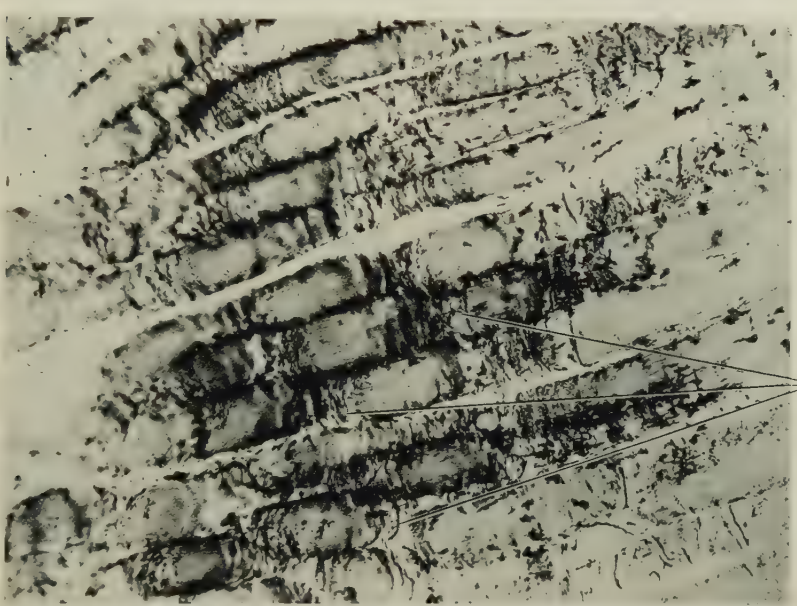


Abb. 2. Skeletmuskulatur vom Oberschenkel. TTC-Reaktion — Hämatoxylin. *S* = Spangenartige Kristallablagerungen besonders im Bereich der sogenannten Kontraktionsknoten. Photo: Vergrößerung 115fach.

unterscheiden: 1. Feine kristalline „Bestäubung" des Muskelschlauches, 2. Ablagerung größerer verzweigter Kristalle in gewissen Abständen, 3. spangenartige Kristallanlagerungen an die Muskelfasern mit zum Teil korbgeflechtartigen Bildungen. Besondere Anhäufung dieser Spangenkristalle im Bereich sogenannter Kontraktionsknoten (siehe Abb. 2). Sehnenansatz stets kristallfrei.

Achilles-Sehne: Keine Kristalle mikroskopisch nachweisbar.

Niere: Reichliche Kristallablagerungen im Bereich der Kanälchenepithelien. Dadurch deutliches Hervorheben des Kanälchensystems gegenüber dem kristallfreien Interstitium (vgl. Abb. 3 bei DOERR). Große und gröbere Kristalle im Bereich der Hauptstückepithelien. Sehr zahlreiche, kleine, sehr dicht liegende Kristalle in den Epithelien der Schaltstücke,

die dadurch hervorgehoben scheinen. Nicht selten ringförmige perinucleäre Kristallablagerungen im Bereich der Harnkanälchenepithelien (siehe Abb. 3).

Nebenniere: Zona fasciculata rötlich gefärbt. Im Nebennierenmark mäßig reichlich, große verzweigte Kristalle. Verschiedentlich auch im Bereich der unmittelbar an das Mark angrenzenden Abschnitte der Zona reticularis einzelne Kristalle nachweisbar.

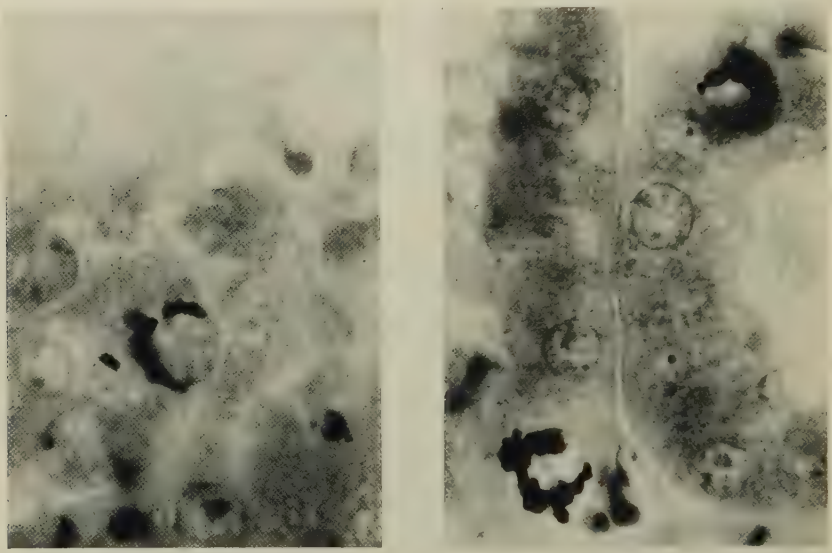


Abb. 3. Niere. TTC-Reaktion — Hämatoxylin. Photo: Vergrößerung 960 und 1100fach.

Speicheldrüse: Untersucht wurde die Glandula submandibularis. Sehr starke Markierung der Ausführungsgänge und Sekretröhren durch dichte, stark rot gefärbte Kristallablagerungen. Im Bereich des Drüsenparenchyms mehr verteilte und einzeln liegende, reichliche mittelgroße Kristalle (siehe Abb. 4). Eingelagertes Fettgewebe rot gefärbt.

Uterus: Oberflächenepithel und Drüsenschläuche heben sich durch dichte Kristallablagerungen deutlich heraus. Im Schleimhautstroma weniger dichte, mehr gleichmäßig verteilte, mittelgroße Kristallablagerungen. In der Muskulatur reichlichere große Konkremente.

Pankreas: Dichte Ablagerungen kleiner Formazankristalle im Bereich der Epithelien der kleinen und großen Ausführungsgänge, die dadurch ähnlich wie bei der Speicheldrüse in ihrer verästelten Verlaufsform deutlich markiert sind. Besondere Hervorhebung der Langerhansschen Inseln durch sehr zahlreiche kleine, dicht gelagerte Konkremente. Im exkretorischen Parenchym mehr gleichmäßig verteilte, weniger reich-

liche größere Kristalle (siehe Abb. 5). Inkrapankreatisches Fettgewebe stark rot gefärbt. Interstitielles Bindegewebe kristallfrei.

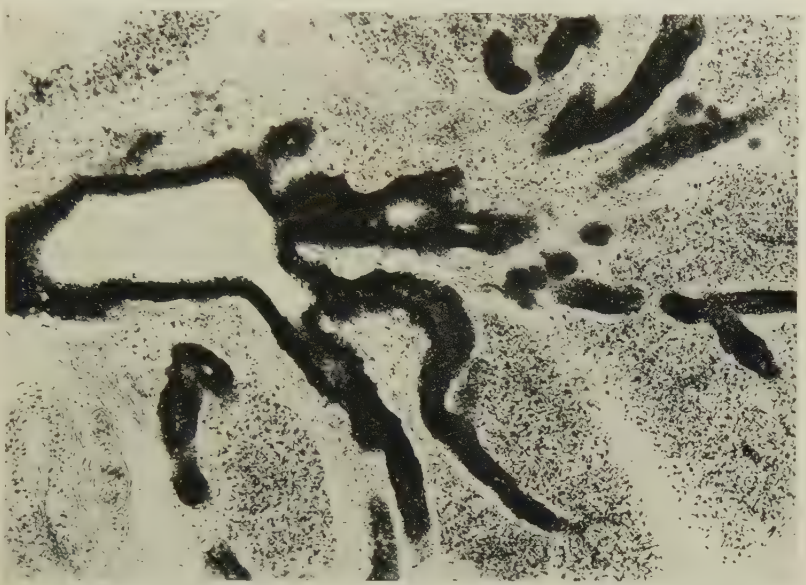


Abb. 4. Glandula submandibularis. TTC-Reaktion. Photo: Vergrößerung 100fach.

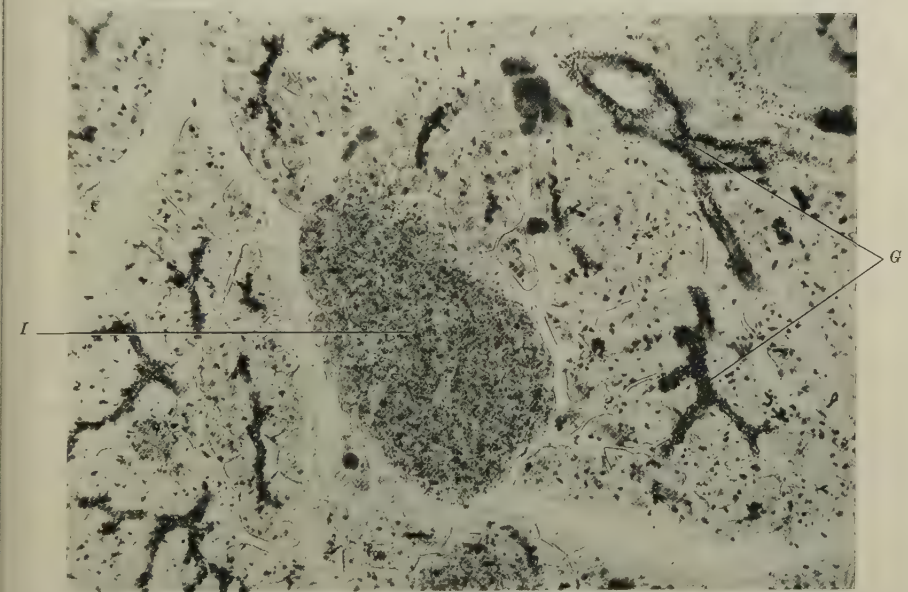


Abb. 5. Pankreas. TTC-Reaktion. *I* = LANGERHANSsche Insel; *G* = größere und kleinere Ausführungsgänge. Photo: Vergrößerung 100fach.

Besprechung der Ergebnisse.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten zeigen, daß die Organe ein unterschiedliches Verhalten gegenüber Triphenyltetrazoliumchlorid aufweisen. Besonders eindrucksvoll war die Art der Ablagerung im Bereich des Magen- und Darmtraktes, der Speicheldrüse, der Niere, des Uterus und der Skeletmuskulatur. Die Befunde stimmen zum Teil mit den von Doerr und v. Hayek erhobenen überein, zum Teil gehen sie in manchen Einzelheiten darüber hinaus. An keinem Organ konnten wir Formazankristalle im lockeren oder straffen Bindegewebe nachweisen. Eine Ausnahme bildet das lockere, blutgefäßreiche Stroma der Uterusschleimhaut, das aber vermöge seiner pluripotenten und schnell regenerationsfähigen Zellen (Quellung, Glykogenspeicherung, deciduale Umwandlung, häufigen Mitosen) stoffwechselmäßig eine Sonderstellung beanspruchen kann.

Besondere Aufmerksamkeit haben wir der Lokalisation der Reduktionserscheinungen innerhalb der Zelle gewidmet. Aber lediglich im Bereich der Kanälchenepithelien der Niere war uns eine Beziehung zu präformierten Zellbestandteilen aufgefallen. Die perinucleäre Lagerung der ringförmigen Kristalle läßt aber zuerst an einfache Anlagerungserscheinungen an corpusculäre Gebilde denken, die ja von vornherein zu solchen Ablagerungen prädisponiert sind. In unserem Falle käme daher vor allem die Kernmembran in Betracht. Es wäre natürlich auch möglich, daß die vielfach im perinucleären Bereich vorhandenen fermenttragenden Cytoplasmagranula diese bevorzugte Lagerung bewirkt hätten. Doerr schreibt nach eingehender Untersuchung der Niere: „Besondere topische Beziehungen zum Zellkern wurden niemals gefunden." Im allgemeinen müssen wir auch mit v. Hayek und Doerr bekennen, daß uns ebenfalls eindeutige Anhaltspunkte für den Ort der Kristallentstehung fehlen.

Die Kristallablagerungen im Bereich des Pankreas waren im Gegensatz zu der Beschreibung von Doerr für uns besonders eindrucksvoll. Auch daß sich „in den sonst farblosen Inseln" erst „durch intravenöse Traubenzuckerinjektion das Ausfallen von Formazankristallen erreichen läßt" (v. Hayek) können wir nicht bestätigen. Traubenzuckerinjektionen, die wir ebenfalls zur Nachprüfung der v. Hayekschen Angaben ausgeführt haben, konnten das normale, oben beschriebene Bild in keiner Weise verändern. An allen untersuchten Bauchspeicheldrüsen waren die von uns beschriebenen Kristallokalisationen in charakteristischer Weise vorhanden und konnten sowohl nach einfachem Einlegen in eine 1%ige TTC-Lösung, nach i.c. Injektion einer 3%igen TTC-Lösung wie auch nach kombinierter Behandlung festgestellt werden.

Alloxanversuche.

Methodik. Meerschweinchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 500 g erhielten 200 mg Alloxan in 2 cm³ physiologischer Kochsalzlösung subcutan injiziert. In Abständen von 1—2 Std wurden den Tieren in leichter Narkose bis zu 5 cm³

3%iges Triphenyltetrazoliumchlorid, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst (pH 7,2), intracardial injiziert. Nach etwa 10 min wurden die Tiere seziert und der Bauchsitus freigelegt. Schon makroskopisch fiel eine Abschwächung der normalerweise starken Rotfärbung des Pankreas auf. Mikroskopisch waren die Befunde jedoch wesentlich eindrucksvoller.

Ergebnisse. Im allgemeinen konnten wir den durch die Alloxanbehandlung eingetretenen Grad der Reduktionshemmung am Pankreas in 3 Stadien einteilen, die etwa einer Alloxanwirkungsdauer von 1, 1½ und

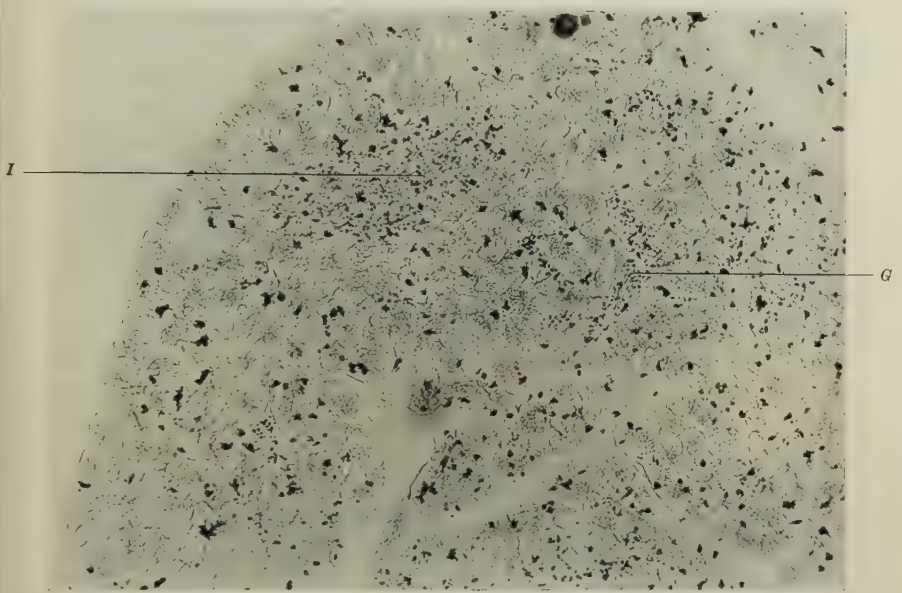


Abb. 6. Pankreas nach Alloxanbehandlung. TTC-Reaktion.
1. Stadium. *I* = Langerhanssche Insel; *G* = kleiner Ausführungsgang. Photo: Vergr. 110fach.

2 Std entsprechen, aber kein starres Schema darstellen sollen. Im 1. Stadium waren die Kristallablagerungen gegenüber der Norm deutlich verringert. Davon sind vor allem die Inseln und die kleineren und größeren Ausführungsgänge betroffen, während das exkretorische Parenchym weiterhin in gleicher Stärke Formazankristalle gebildet hat. Ausführungsgänge werden nur eben durch eine etwas dichtere Kristallbesetzung markiert. In etwa gleichem Ausmaße ist dies bei den Langerhansschen Inseln der Fall (siehe Abb. 6), wobei erwähnt werden muß, daß auch jetzt schon ein Teil der Inseln völlig kristallfrei geblieben ist. Das 2. Stadium war gekennzeichnet durch weitere Zunahme der Kristallbildungshemmung. Es ließen sich keine exkretorischen Ausführungsgänge am ungefärbten Präparat an Hand einer Kristallmarkierung auffinden. Im Bereich der Inseln waren nur noch hier und da einzelne Kristallablagerungen zu

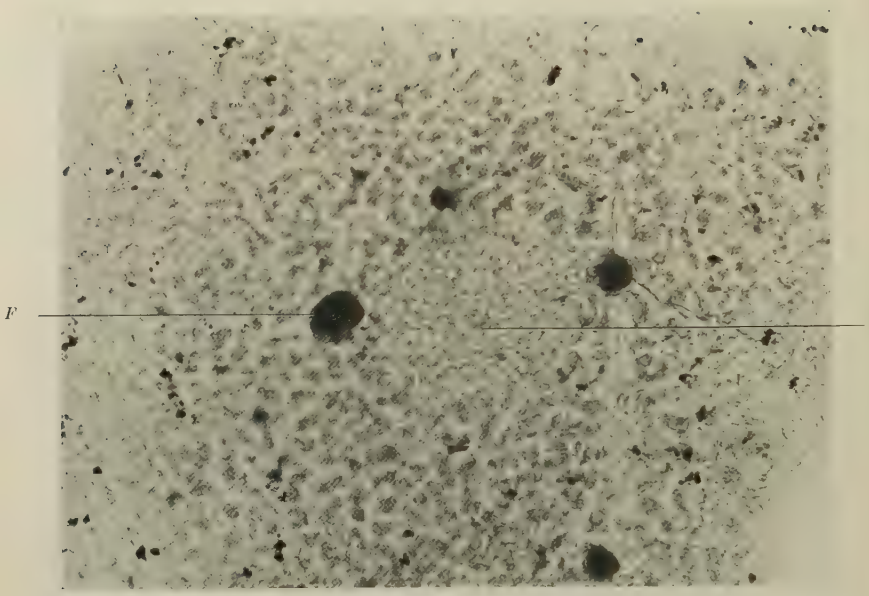


Abb. 7. Pankreas nach Alloxan-Behandlung. TTC-Reaktion. 2. Stadium. *I* = LANGERHANSsche Insel; *F* = Fettzelle. Photo: Vergrößerung 130fach.

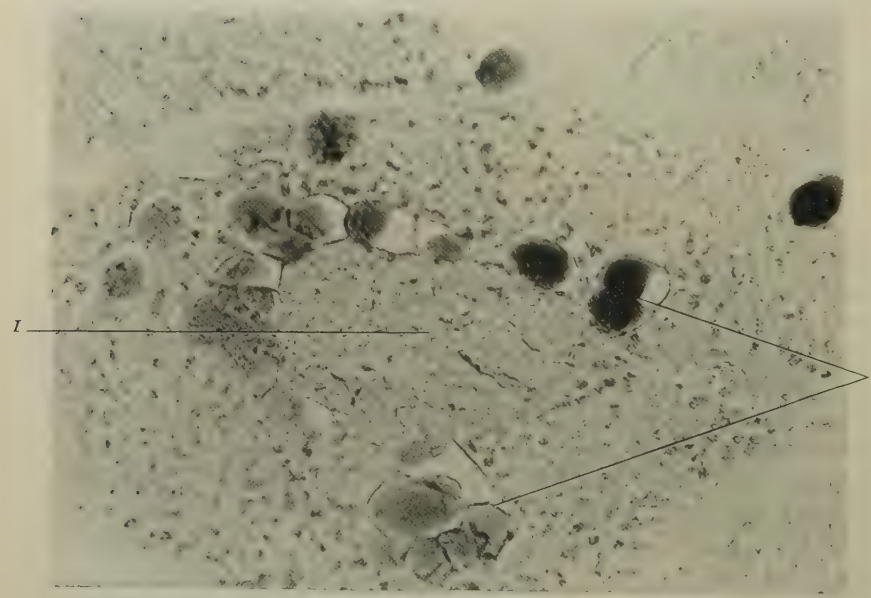


Abb. 8. Pankreas nach Alloxan-Behandlung. TTC-Reaktion. 3. Stadium. *I* = LANGERHANSsche Insel; *F* = Fettzellen. Photo: Vergrößerung 115fach.

sehen. Auch die Menge der Formazankristalle im übrigen Pankreasgewebe hatte abgenommen (siehe Abb. 7). Dagegen sind die Fettzellen innerhalb des Pankreasgewebes noch stark rot gefärbt. Im 3. Stadium schließlich sind alle Inseln und Ausführungsgänge völlig kristallfrei. Das exkretorische Drüsengewebe läßt ebenfalls kaum noch Formazankristalle erkennen. Lediglich die vorerwähnten Fettzellen sind noch schwach bis deutlich rötlich gefärbt (siehe Abb. 8).

Besprechung der Ergebnisse.

Aus diesen Versuchen ist zu entnehmen, daß die Wirkung des Alloxans am Pankreas mit einer Schädigung bzw. Hemmung der dehydrierenden Fermente einhergeht*. Nach Doerr, Bopp, Kuhn u. Quadbeck „spielen wasserstoffübertragende Fermente für den Ablauf der Giftwirkung" durch Alloxan und Glyoxal „eine sehr wesentliche Rolle". Kuhn und Doerr haben bereits bei makroskopischer Betrachtung auf die verzögerte oder nicht eintretende Rotfärbung des Pankreas bei Alloxantieren (Kaninchen und Katzen) nach TTC-Behandlung aufmerksam gemacht. Mikroskopisch ist interessant dabei, daß fast gleichzeitig mit dem Inselapparat auch die Epithelien des Gangsystems von der Reduktionshemmung betroffen werden, während das rein exkretorische Parenchym erst später seine reduktiven Fähigkeiten gegenüber Triphenyltetrazoliumchlorid verliert.

Zusammenfassung.

An Hand zahlreicher Versuche an erwachsenen Meerschweinchen mit dem Reduktionsindicator Triphenyltetrazoliumchlorid wird über Organuntersuchungen nach einfacher Schnitteinlegung, intracardialen Injektionen und kombinierter Behandlung berichtet.

Die Versuche haben gezeigt, daß das Tetrazoliumsalz von bestimmten Gewebsformationen so reduziert wird, daß charakteristische Kristallablagerungen zustande kommen.

Stationäres Bindegewebe war stets kristallfrei. Im Bereich der Kanälchenepithelien der Niere konnten perinucleäre, ringförmige Formazankristalle gefunden werden.

Am Beispiel des alloxanvergifteten Pankreas werden die von Kuhn und Doerr nach makroskopischer Beurteilung schon angegebenen Schädigungen dehydrierender Fermentsysteme an Hand mikroskopischer Befunde eingehend besprochen.

* Alloxan wirkt bei Meerschweinchen im allgemeinen nicht diabetogen. Die Blutzuckerwerte, nach Hagedorn-Jensen bestimmt, blieben auch während unserer Versuche stets im Bereich der Norm. Die trotzdem nachweisbaren Fermentschädigungen am Pankreas und speziell am Inselapparat gewinnen u. E. damit eine besondere Bedeutung.

Literatur.

Becker, H., u. G. Quadbeck: Naturwiss. **24**, 565 (1950). — Black, M. M., and I. S. Kleiner: Science (Lancaster, Pa) **110**, 660 (1949). — Doerr, W.: Frankf. Z. Path. **61**, 557 (1950); Virchows Arch. **321**, 537 (1952). — Doerr, W., F. Bopp, R. Kuhn u. G. Quadbeck: Naturwiss. **35**, 125 (1948). — Doerr, W., u. E. v. Lüttichau: Klin. Wschr. **27**, 754 (1949). — Fleckenstein, A., G. Berg, I. Gayer u. S. Schönig: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 265 (1951). — Hayek, v. H.: Naturwiss. **37**, 262 (1950). — Erg. H. Anat. Anz. **97**, 164 (1951). — Kuhn, R., u. D. Jerschel: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 949 (1941). — Lakon, G.: Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 299 (1942); Mattson, A. M., C. O. Jensen and R. A. Dutcher: Science (Lancaster, Pa) **106**, 294 (1947). — Meyer-Arendt, J.: Klin. Wschr. **27**, 608 (1949). — Schmitz, H.: Z. Krebsforschg **56**, 596 (1950). — Schümmelfeder, N.: Verh. dtsch. Ges. Path. 33. Tgg. Kiel 1949. — Siegert, R., K. W. Brückel u. W. Ried: Z. exper. Med. **117**, 626 (1951). — Stüttgen, G.: Klin. Wschr. **29**, 766 (1951). — Waugh, Th. D.: Science (Lancaster, Pa) **107**, 275 (1948).

Dr. med. W. Knoth, Hautklinik der Justus-Liebig-Hochschule, Gießen, Gaffkystr. 14.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 375—384 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Über die Wirkungsbedingungen des herzwirksamen Glykosides Transvaalin.

Von
J. Bätge und H. Rohr.

(Eingegangen am 19. März 1953.)

Das Transvaalin wurde aus der Urginea burkei, einer in Südafrika weitverbreiteten, der roten Meerzwiebel verwandten Pflanze, isoliert. Sie ist bei der Bevölkerung dieser Gegend unter dem Namen „Transvaal-slangkop" bekannt und gefürchtet, weil sie alljährlich unter dem Weidevieh große Verluste verursacht.

Seit 1916 haben sich das Imperial-Institut London, George und Stephen um die chemische Aufklärung des wirksamen Giftes bemüht und dabei Glykoside isoliert. Louw nannte das von ihm 1949 gefundene wirksame Glykosid *Transvaalin* und verglich seine chemischen Eigenschaften mit Glykosiden anderer Urginea-Arten (Scillaren, Scillirosid u. a.). Tschesche und sein Mitarbeiter Höttemann haben in letzter Zeit die chemische Konstitution aufgeklärt.

Es handelt sich beim Aglykon um das Analoge des Digitoxins, lediglich der Laktonring in der Seitenkette ist durch einen doppelt ungesättigten Sechsring (wie bei Scillaren A) ersetzt. Die Zuckerkomponente besteht aus einer Rhamnose, einer Glucose und einem Essigsäurerest (Rhamnose und Glucose finden sich auch beim Scillaren A — eine Rhamnose allein beim g-Strophanthin — während der Essigsäurerest bei den Lanataglykosiden vorkommt).

Über die pharmakologischen Wirkungen des Transvaalins ist bisher nur wenig bekannt. George schreibt, daß einer der beiden von ihm gefundenen chemischen Körper als Herzgift, der andere als Gift für das Zentralnervensystem wirkte; als Rattengift seien sie wirkungslos. In der Mitteilung von Louw findet sich die Angabe, daß Transvaalin ein typisches Herzgift sei, welches bei Ratten in hohen Dosen (25 mg), intraperitoneal gespritzt, zu klonischen Krämpfen führe. Schließlich wurde uns die Angabe von Chen zugänglich, der an Katzen eine Hatcher-Dosis von 0,167 mg/kg ermittelte.

Wegen der strukturchemischen Beziehungen des Transvaalins zu anderen herzwirksamen Glykosiden war es von Interesse, seine allgemein-pharmakologischen Wirkungsbedingungen (Resorption, Elimination, Eiweißbindungsfähigkeit u. a.) mit neueren Methoden vergleichend zu prüfen.

Insbesondere nahmen wir eine Anregung von Tschesche auf, die perorale Resorbierbarkeit und die Zerstörbarkeit des Stoffes in der Leber zu untersuchen, weil Giertz u. Schunk auf dem Pharmakologen-Kongreß in Göttingen (1952) für Scilla-Glykoside, also Verbindungen mit doppelt ungesättigten Lacton-sechs-ringen, eine höhere Beständigkeit angegeben hatten. Die Tatsache, daß das Transvaalin einen gleichartigen

Laktonring bei gleichzeitig digitoxinartiger Konfiguration des Genins besitzt, ließ eine besonders hohe Resorbierbarkeit ohne Verluste erhoffen.

Wir verdanken Herrn Professor Tschesche die Überlassung der Reinsubstanz. Transvaalin war in Wasser in der Konzentration 1:1000 langsam, aber genügend löslich, die Löslichkeit in Alkohol war geringer. Ausgehend von einer Stammlösung 1:1000 wurden die erforderlichen Konzentrationen jeweils frisch hergestellt.

I. Versuche am Frosch.

An Rana temporaria wurde im Dezember 1952 die Toxizität bei Injektion in den Bauchlymphsack (Lösung 1:10000) ermittelt. Wir fanden bei Berechnung nach Behrens-Kärber für Transvaalin eine LD 50 von 0,0058 mg/10 g und in gleichzeitigen Versuchen für k-Strophanthin eine LD 50 von 0,0024 mg/10 g. Danach würde also 1 mg k-Strophanthin 4200 FD besitzen oder k-Strophanthin wäre $2\frac{1}{2}$ mal so wirksam wie Transvaalin mit 1724 FD pro mg.

In der Literatur werden für Scillaren A 1550 FD pro mg, für Scillirosid 1990 und für Scillirosidin 637 FD pro mg angegeben (Rothlin und Schalch).

Am isolierten Herzen von Rana temporaria wurde in gleichzeitigen Versuchen bei einer Kanülenfüllung von 1,0 cm^3 ein systolischer Stillstand mit Konzentrationen 1:500000 bis 1:700000 bei einer Beobachtungszeit von 60 min festgestellt. In ähnlicher Versuchsanordnung haben andere Autoren (Kingisepp) für Digitoxin mit 1:200000—300000 und für k-Strophanthin mit 1:800000 bis 1:1000000 eine systolische Wirkung gefunden. Die Wirksamkeit des Transvaalins liegt also am isolierten Herzen in der Größenordnung dieser beiden Glykoside.

Das Wirkungsbild war das für Digitalisglykoside übliche. Die systolische Wirkung war durch Auswaschen schlecht reversibel. Sie erfolgte nur in Gegenwart von Calcium. Bei Wechsel der Ringer-Lösung gegen calciumarmen Ringer sank der Herzhebel in diastolische Stellung, bei erneutem Ringer-Zusatz stellte sich wieder die systolische Kontraktur ein.

Am isolierten Froschherzen konnte auch die Frage geprüft werden, ob Transvaalin an Eiweiß gebunden wird, wie es zuerst von Hoekstra beobachtet worden ist und später von Lendle u. Mitarb. Rothlin, Suter u. a. genauer analysiert wurde. Strophanthine werden nicht gebunden, dagegen das Digitoxin gut und das Lanata-C-Glykosid nur mäßig. Scillaren A nimmt eine Mittelstellung zwischen Digitoxin und Strophanthin ein. Wir prüften am Froschherzen, ob Konzentrationen von 1:500000 bzw. 1:700000 Transvaalin durch Zusatz von Boviserin in Verdünnung 1:3 bzw. 1:5 mit der Giftlösung abgeschwächt wurde. Bei 60 min Beobachtungszeit fanden wir keine wesentliche Abschwächung der Wirksamkeit, während Rothlin bei kürzerer Beobachtungszeit mit höheren Konzentrationen für Scillaren eine stärkere Bindung gefunden hatte (Abschwächung auf $\frac{1}{3}$ Wirksamkeit).

II. Ermittlung der intravenösen letalen Dosis am Warmblüter.

Die tödliche Dosis wurde bei intravenösen Dauerinfusionen an urethanbetäubten Tieren (1,5 g/kg subc.) ermittelt. Die Infusionszeit wurde bei Katzen auf etwa 50 min bemessen, damit nicht bei zu schneller Infusion eine Übertitration des vielleicht langsam gebundenen Glykosides erfolgt. Bei Meerschweinchen hielten wir uns an die neuerdings von HOFFMANN und LENDLE gegebenen Vorschriften und ermittelten die tödliche Dosis bei künstlicher Beatmung innerhalb von 20—30 min. Der Herzstillstand wurde meist unter Thoraxeröffnung in der letzten Phase der Titration festgestellt.

a) Letale Dosis an 6 Katzen: 0,148 mg/kg $\pm$ 6,7%. Sie liegt etwas unter dem von K. K. CHEN mit 0,167 mg/kg angegebenen Wert und fällt in den Bereich von Scillaren A (0,145 mg/kg ROTHLIN, 0,15 mg/kg K. K. CHEN) und k-Strophanthin (0,15 mg/kg LENDLE).

b) Letale Dosis an 8 Meerschweinchen: 0,275 mg/kg $\pm$ 11,7%. Sie liegt im Bereich des g-Strophanthins (0,25 mg/kg LENDLE, 0,26 mg/kg STRAUB). Für das Scillaren A fanden wir in der Literatur keine vergleichbaren Werte.

III. Prüfung der enteralen Resorption.

Infolge Substanzmangels beschränkten wir uns bei der Prüfung der Resorptionsbedingungen auf die Bestimmung der Wirksamkeit bei duodenaler Applikation. Eine solche Methode ist von VON NYARYI beschrieben. Wir folgten im wesentlichen der Variation dieser Methode nach NEUMANN.

Wir injizierten bei Katzen in den operativ freigelegten Bulbus duodeni, den wir im Gegensatz zu VON NYARYI nur oralwärts unterbanden, jeweils 100, 200 oder 300% der intravenös letalen Dosis, gelöst in 5—7 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung. Das entspricht einer Giftkonzentration von 1:10000 bis 1:20000. Nach Ablauf von 1—4 Std wurde intravenös mit g-Strophanthin bis zum Herzstillstand nachinfundiert. Aus der Größe dieser nachinfundierten tödlichen g-Strophanthindosis („Auffülldosis") wurde dann die resorbierte Transvaalin-Menge berechnet. Die Tab. 1 gibt eine Übersicht über die Versuche.

Die Versuchsergebnisse waren nicht einheitlich: in 5 von 13 Versuchen keine Resorption; in 3 von 13 Versuchen 10—30%ige Resorption; in 5 von 13 Versuchen 30—50%ige Resorption.

Alle Versuchstiere wurden seziert. In den Fällen, in denen keine Resorption gefunden wurde, war die enteral injizierte Lösung nicht in das Jejunum übergetreten und sistierte im Duodenum. Entzündliche Erscheinungen ließen sich makroskopisch nicht nachweisen. Alle Versuchstiere waren verwurmt. Bei diesen Versuchen wurden immer frische Lösungen verwandt, die sich noch mehrere Wochen nach Abschluß der Versuche als voll brauchbar erwiesen.

Die Uneinheitlichkeit der Ergebnisse möchten wir als eine Eigenschaft des Transvaalin auffassen — wie sie auch von anderen Glykosiden (Strophanthin) bekannt ist. Es besteht keine offensichtliche Abhängigkeit der Resorptionsgröße von der Größe der duodenal applizierten Dosis.

Die enterale Wirksamkeit des Transvaalins ist demnach gering, während sie für Digitoxin von allen Autoren übereinstimmend als gut angegeben ist (Issekutz, Redonnet-Alday, Fromherz u. Welsch, Švec u. Hasíc, Neumann, Reinert). Das Glykosid entspricht in seinem Verhalten also dem der Strophanthine. Ob diese Wirkungsverluste bei enteraler Zufuhr von Transvaalin auf einer Zerstörung im Darmsaft beruhen, wurde nicht ermittelt.

Tabelle 1. *Versuche zur enteralen Resorption an Katzen.*

Nr.	Transvaalin-Vorgabe % d. let. i. v. Dosis A	Strophanthin % d. let. i. v. Str.-Dosis B	Resorption % der let. Dosis C	Zeit in Minuten D	% der enteralen Vorgaben E
1	100	53	47	120	47
6	100	125	—	120	—
7	100	126	—	120	—
3	100	66	34	240	34
5	200	96	4	60	2
11	200	96	4	60	2
8	200	79	21	120	10
10	200	—	100	123	50
2	200	—	100	96	50
15	200	79	21	120	11
9	300	—	100	82	33
13	300	49	51	120	17
14	300	97	3	120	—

Erklärung zur Tab. 1. In der Spalte A ist angegeben, wie hoch die duodenal applizierte Transvaalin-Dosis war, und zwar in Prozent der intravenös letalen Dosis. Die nachinfundierte g-Strophanthindosis wurde in Spalte B in Prozent der intravenös letalen g-Strophanthindosis (mit 0,1 mg/kg angenommen) aufgeführt. Die berechnete resorbierte Transvaalin-Menge (Differenzbetrag zu 100%) findet sich in Spalte C, ausgedrückt in Prozent einer letalen Transvaalin-Dosis. Die Zeit der Transvaalin-Resorption — also die Zeit von der duodenalen Injektion bis zum Beginn der Nachinfusion in Minuten — ist in der Spalte D angegeben. Die Spalte E enthält den Resorptionswert, der sich ergibt, wenn man die resorbierte Menge (in Prozent der letalen Transvaalin-Dosis, Spalte C) auf die duodenale Vorgabe (Spalte A) bezieht.

IV. Eliminationsbedingungen.

Bei Glykosidstoffen mit geringer oder verzögerter Resorptionsfähigkeit kann neben einer etwaigen Zerstörung in den Verdauungssäften auch eine Elimination im Gewebe während der Resorption eine Rolle spielen oder auch eine Bindung im Leberfilter, welches in den Resorptionsweg eingeschaltet ist. Die Bestimmung der Eliminationsgröße ist auch für die Beurteilung der Wirkungsdauer und der Kumulationsneigung von Bedeutung. Unterschiede der Einzelglykoside in diesem

allgemeinpharmakologischen Verhalten können gerade für die spezielle Indikationsstellung von Wichtigkeit sein. Wir ermittelten daher für Transvaalin mit neuer Methodik einige Vergleichswerte zu anderen Glykosiden.

1. Elimination am intakten Meerschweinchen.

Die Bestimmung der Elimination erfolgte in der von Hoffmann und Lendle beschriebenen Weise durch Variieren der Infusionsgeschwindigkeit (Infusionsdauer bis zu 6 Std). Die Eliminationsgröße pro Stunde ergibt sich, wenn man von den erzielten Werten die normalen Titrationswerte in mg/kg und pro 30 min abzieht und wenn man dann die übertitrierte Dosis auf die Dauer der Übertitration bezieht.

So ergibt sich für das Transvaalin eine Eliminationsgröße von 0,0696 mg/kg/60 min $\pm$ 0,0142. Sie entspricht also 25% der letalen Transvaalin-Dosis pro Stunde. Dieselbe Eliminationsgröße ist von Hoffmann u. Lendle für Digitoxin bestimmt worden, für g-Strophanthin fanden sie 43% der letalen Dosis.

2. Bestimmung der letalen Dosis beim Meerschweinchen nach Ausschaltung der Leber aus dem Kreislauf.

Giertz u. Schunk haben festgestellt, daß bei Strophanthin und Digitoxin die Erhöhung der letalen Dosen bei Abnahme der Infusionsgeschwindigkeit — also der durch Elimination bedingte Übertitrationseffekt — ausbleibt, wenn die Leber aus dem Kreislauf ausgeschaltet ist; für Scillaren A fanden sie bei ihren Untersuchungen dagegen keinerlei Zeichen für eine Elimination in der Leber. Uns interessierte, wie das Transvaalin sich verhält.

Zur Ausschaltung der Leber aus dem Kreislauf wurden die im Omentum minus laufenden Gefäße (v. portae und A. hepat. comm.) und die Mesenterialwurzel (Aa. mesentericae zur Vermeidung der tödlichen Pfortaderstauung) unterbunden. Um Schockfolgen zu umgehen, wurde nach Operationsende 1—1½ Std bis zur Infusion gewartet. Anschließend wurde mit wechselnden Infusionsgeschwindigkeiten unter künstlicher Beatmung (Infusionsdauer bis zu 5 Std) intravenös infundiert. Die Tab. 2 gibt eine Übersicht über die Versuche.

Es zeigt sich, daß unter diesen Bedingungen die letale Dosis mit 0,118 mg/kg $\pm$ 8,5% wesentlich geringer ist als die des Ganztiers; sie beträgt nur 43% derselben. Außerdem ist die letale Dosis unabhängig von der Infusionsgeschwindigkeit.

Da die letale Dosis so wesentlich geringer ist, ist anzunehmen, daß in dem hier ausgeschalteten Gebiet von Leber und Darm normalerweise laufend Glykosid gebunden und zerstört wird, und daß hier der Hauport der Elimination zu suchen ist. Der Operationsschock kann bei diesen Versuchen als Ursache der Toxizitätssteigerung wohl keine wesentliche Fehlerquelle bilden, denn 1. haben wir nach dem Operationsende ein

gewisse Zeit verstreichen lassen, ehe der eigentliche Versuch begann, 2. spricht die lange Dauer der Versuche (bis zu 5 Std Infusionszeit) und die nur geringe Streuung unserer Ergebnisse gegen eine solche Vermutung.

Tabelle 2. *Letale Dosis am Meerschweinchen unter Ausschaltung der Leber.*

Nr.	Gewicht in Gramm			Transvaalin-Infusion i. v.				
	Ganztier GT	Leber — L	Leber + Darm — LD	Inf. Geschw. mg/kg/30	Dauer Minuten	Letale Dosis berechnet auf Gewicht GT mg/kg	GT-L mg/kg	GT-LD mg/kg
4	542	32	92	0,1	31	0,0975	0,102	0,116
6	650	32	111	0,1	28	0,095	0,0995	0,1142
7	525	25	94	0,1	33	0,093	0,097	0,112
9	500	25	97	0,03	97	0,0924	0,097	0,107
10	550	32	102	0,03	120	0,114	0,121	0,140
11	520	25	97	0,03	112	0,104	0,109	0,128
12	520	23	105	0,02	155	0,099	0,104	0,124
13	474	22	114	0,02	120	0,079	0,083	0,108
14	478	22	97	0,01	285	0,0915	0,0955	0,1145
15	500	23	97	0,01	298	0,0944	0,099	0,117
Mittelwerte:						0,09798	0,1007	0,118
mittl. Abw.: ±						0,0098	0,0087	0,01
mittl. Abw.: in %: ±						10%	8,6%	8,5%

Erklärung zur Tab. 2: Es finden sich verschiedene Mittelwertsberechnungen: Letale Dosis bezogen auf kg Ganztier (Spalte GT), auf kg Ganztier abzüglich Lebergewicht (Spalte GT — L) und auf kg Ganztier abzüglich Leber- und Darmgewicht (Spalte GT — LD). Es erscheint uns notwendig, lediglich den Mittelwert der letzten Spalte (GT — LD) zu verwenden, da in unserer Versuchsanordnung Leber und Darmgebiet von der Glykosidzufuhr ausgeschlossen sind.

3. Bestimmung der letalen Dosen an Meerschweinchen bei Infusion in einen Pfortaderast.

Um die Frage, welche Rolle die Leber im Entgiftungsgeschehen spielt, von anderer Seite anzugehen, prüften wir das Verhalten der letalen Dosen bei Infusion in einen Pfortaderast. Bei dieser Applikation muß das Glykosid, bevor es an das Herz und in den Kreislauf gelangt, die Leber durchströmen.

Wir wählten für die Injektion in diesen Fällen die Vena ileocoecalis, die sich beim Meerschweinchen verhältnismäßig leicht kanülieren läßt. Die Infusionsgeschwindigkeit wurde so hoch gewählt, daß der Herzstillstand in der gleichen Zeit wie bei den üblichen Infusionsversuchen eintrat. Die übrige Versuchsanordnung wurde schon unter 2. beschrieben.

Die letale Dosis bei dieser Art der Infusion ist mit 0,439 mg/kg höher als die bei der Infusion in die Vena iugularis gefundene. Bei primärer Leberpassage verringert sich demnach die Toxizität, die letale Dosis beträgt 160% der unter 2. aufgeführten.

4. Letale Dosis bei intraperitonealer Injektion am Meerschweinchen.

In einigen orientierenden Versuchen ermittelten wir die tödliche Dosis bei einmaliger intraperitonealer Injektion, wobei auch damit zu rechnen war, daß bei relativ schneller Resorption ein gewisser Anteil die Leber passieren mußte. Wir fanden, daß 0,6 mg/kg von 3 Tieren überlebt wurde, daß 0,75 mg/kg bei 2 von 3 Tieren tödlich wirkte.

Danach wäre also die tödliche Dosis auch etwa 3mal höher als bei kurzfristiger intravenöser Titration.

5. Infusion in einen Pfortaderast bei der Katze.

Ebenso wie beim Meerschweinchen prüften wir, ob die Leber der Katzen bei Perfusion durch die Pfortader in der Lage ist, die tödliche Wirkung infolge von Glykosidbindung abzuschwächen. Wir fanden dabei 0,256 mg/kg, d. h. 173% der intravenös letalen Dosis als tödlich. Die Befunde zeigen also, daß Transvaalin in der Katzenleber ähnlich wie in der Meerschweinchenleber gebunden werden kann. Die Ergebnisse weichen deutlich ab von Beobachtungen mit Lanata-Glykosiden in gleichartiger Versuchsanordnung (Hackenberg). Diese waren bei intraportaler Infusion ebenso wirksam wie intravenös. Der Unterschied dürfte also nicht durch verschiedene Tierarten, sondern durch die Struktur der Glykoside bedingt sein.

Besprechung der Ergebnisse.

Das Transvaalin nimmt in seiner Herzwirksamkeit eine Mittelstellung zwischen Strophanthin und Digitoxin ein und gleicht in diesem Verhalten dem Scillaren A. Diese Feststellung bezieht sich auf die ermittelten letalen Dosen:

am Frosch (LD 50)	0,0058 mg/10 g,
am Meerschweinchen	0,275 mg/kg ± 11,7%,
an der Katze	0,148 mg/kg ± 6,7%,

am isolierten Froschherzen erfolgte mit 1:500000 bis 1:700000 ein systolischer Stillstand.

Bei enteraler Zufuhr an Katzen zeigte Transvaalin keine sonderliche Resorptionsfähigkeit. Innerhalb von 2 Std wurden nur etwa 20% bei großer Streuung aufgenommen. Diese Aufnahme war also geringer als sie sonst für Digitoxin bekannt ist und entspricht bei ähnlichem Prüfungsverfahren etwa der Hälfte bis einem Drittel der Digitoxinaufnahme, die von Neumann angegeben wurde.

Für Scillaren A scheint mit gleichem Verfahren keine Resorptionsprüfung vorzuliegen. Aus Literaturangaben von Rothlin u. Schalch ergibt sich nur, daß bei „duodenaler Infusion“ erst etwa die 8fache

intravenös letale Dosis in 90 min tödlich wirkt. Scillaren A wird also auch nur begrenzt resorbiert.

Diese Feststellungen sind von gewisser Bedeutung im Zusammenhang mit der chemischen Struktur. Das Transvaalin gehört chemisch zur Gruppe der Scilla-Glykoside, die nicht wie Digitalis-Glykoside einen einfach ungesättigten Lakton-fünf-Ring, sondern einen doppelt ungesättigten Lakton-sechs-Ring tragen. Im Cyklopentanoperhydrophenanthren-Gerüst besteht bei Transvaalin kein Unterschied gegenüber dem Digitoxin, während Scillaren A hier eine Doppelbindung zwischen C_4 und C_5 aufweist.

Von Interesse war auch ein Vergleich mit Scillirosid und seinem Genin aus der roten Meerzwiebel. Es enthält im Genin einen Lakton-sechs-Ring, der an C_3 acetyliert ist, im Cyclopentanoperhydrophenanthren eine Doppelbindung von C_8 nach C_9 und ein drittes Hydroxyl an C_{12}, als Zucker nur eine Glucose (Stoll). Dies Scillirosid ist im Gegensatz zu Scillaren A an der Ratte (deren Herz gegen Glykoside ja recht unempfindlich ist) vorwiegend krampfwirksam, und zwar führen an der weiblichen weißen Ratte schon Dosen von 0,5 mg/kg, am männlichen Tier 2,05 mg/kg zum Tode, während für Scillaren A Dosen bis zu 200 mg/kg ohne Krampeffekt und nicht letal sind. Es ergab sich für Scillirosid weiter, daß die gleiche Dosis oral wie intravenös zu gleichem Effekt führte und bei intravenöser Applikation die Wirkung nur um $^1/_3$ früher eintrat.

Einige orientierende Versuche an weiblichen weißen Ratten ergaben für das Transvaalin bei toxischen Dosen (20—50 mg/kg) nur eine vorübergehende Lähmung der hinteren Extremitäten, während bei letaler Dosierung (100 mg/kg) nach 5—10 min zunächst Lähmung der Extremitäten, wenig später Atemlähmung bei noch überlebender Herzaktion ohne vorhergehende Erregungsstadien beobachtet wurden. Transvaalin steht in dieser Hinsicht also dem Scillaren A qualitativ wie quantitativ näher als dem Glykosid der roten Meerzwiebel.

Ein besonderes Interesse schenkten wir der Frage der Elimination.

Giertz und Schunk haben neuerdings wesentliche Unterschiede im Toxizitätsverhalten einiger Glykoside bei variierter Infusionsgeschwindigkeit gefunden. Sie fanden die letalen Dosen am intakten Meerschweinchen bei Verringerung der Infusionsgeschwindigkeit erhöht für Digitoxin, weniger auch für k-Strophanthin, bei leberlosen (und zusätzlich nierenlosen) Tieren um die Hälfte geringer und auch bei längerer Infusionsdauer konstant. Scillaren A zeigte jedoch auch beim intakten Tier keine Zunahme der letalen Dosis bei verringerter Infusionsgeschwindigkeit, also keine deutliche Elimination.

Bei Ratten stellten Farah und Smuskowicz für das g-Strophanthin eine Verringerung der letalen Dosis sowohl bei Evisceration als auch nach Leberschädigung durch Phosphor und Tetrachlorkohlenstoff fest. Zugleich blieb die letale Dosis unter variierter Infusionsgeschwindigkeit bei eviscerierten Tieren konstant, bei leber-

geschädigten stieg sie im Vergleich zu den Kontroll-Ratten sehr verzögert an. Eine Elimination fand also bei Evisceration nicht statt. Bei Leberschaden ist sie wesentlich geringer als bei den unbeeinflußten Kontrolltieren. Weiter teilen die Autoren mit, daß das Glykosid in der Galle ausgeschieden wird. Sie prüften den Glykosid-Gehalt der Galle am isolierten Froschherzen und fanden ihn bei lebergeschädigten Tieren verringert.

Wir fanden für das Transvaalin eine Eliminationsgröße am Meerschweinchen, die der des Digitoxins entspricht. Am eviscerierten Tier fand sich unter Zunahme der Toxizität um 40% keine Elimination. In dieser Hinsicht ergab sich also keine parallele Beziehung zum Verhalten des Scillaren A, wie es Giertz u. Schunk beschrieben.

Wenn man die Glykosid-Lösung in einen Pfortaderast infundiert, sind für einige Digitalis-Glykoside sowie für Strophanthin keine Änderungen der letalen Dosen an Katzen beschrieben worden (Cushny, Issekutz, von Nyaryi). In letzter Zeit wurde auch für die Lanatoside B und C keine Erhöhung der letalen Dosis bei dieser Applikationsart gegenüber der üblichen Jugularis-Infusion gefunden (Hackenberg).

Für das Transvaalin fanden wir mit diesem Verfahren eine Erhöhung der letalen Dosis auf 173% an Katzen und auf 160% an Meerschweinchen. Eine Erklärung dieses abweichenden Verhaltens können wir nicht geben. Dennoch scheinen diese und unsere vorhergehend besprochenen Befunde dafür zu sprechen, daß der Hauptort der Elimination für Transvaalin die Leber ist.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß das Transvaalin trotz seiner strukturchemischen Ähnlichkeit mit dem Digitoxin und dem Scillaren A sich in einigen allgemein-pharmakologischen Eigenschaften von ihnen unterscheidet. Insbesondere resultiert aus der Strukturbeziehung dieser Glykoside, deren Eigenschaften sich unter Umständen günstig zu ergänzen versprachen, bei diesem Stoff nicht der erhoffte Effekt einer guten resorptiven Wirksamkeit.

Zusammenfassung.

Von Transvaalin, einem Glykosid aus der scillaähnlichen Urginea burkei mit strukturchemischen Beziehungen zum Digitoxin und zum Scillaren A, wurde die Herzwirksamkeit an Fröschen, Katzen und Meerschweinchen bestimmt. Der Stoff steht in dieser Hinsicht quantitativ zwischen Digitoxin und Scillaren A. In seinen allgemein-pharmakologischen Eigenschaften unterscheidet er sich von ihnen.

Die enterale Resorptionsfähigkeit ist wesentlich geringer als die des Digitoxins und entspricht etwa der von Scilla-Glykosiden. Die Eliminationsfähigkeit, geprüft bei Dauerinfusion an Meerschweinchen, entspricht etwa der des Digitoxins und ist an die Anwesenheit der Leber gebunden. Nach Evisceration ist die Toxizität etwa doppelt so groß und die

Elimination entfällt. Auch bei intraportaler Glykosidzufuhr erwies sich die Bedeutung der Leber für die Elimination.

Das Glykosid ist im Gegensatz zu dem Scillirosid der roten Meerzwiebel an Ratten nicht krampfwirksam.

Literatur.

Chen: pers. Mitteilung an Prof. Tschesche; Zit. nach Tschesche: Erg. Physiol. **38**, 31 (1936). — Cushny: zit. nach Heffter-Heubner: Hdb. d. exp. Pharm. Ergbd I (1934). — Farah and Smuskowicz: J. of Pharmacol. **96**, 139 (1949). — Fromherz u. Welsch: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **161**, 266 (1931). — George: zit. nach Louw. — Giertz u. Schunk: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 124 (1953). — Haarmann, Hagemann u. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 205 (1940). — Haarmann, Korfmacher u. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 229 (1940). — Hackenberg: noch unveröffentlichte Versuche. — Hoekstra: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 649, 663 (1931). — Hoffmann u. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 376 (1951). Imperial-Institut London: Bull. Imp. Inst. **14**, 31 (1916). — Issekutz: zit. nach Hefter-Heubner: Hdb. d. exp. Pharm. Ergbd I (1934). — Kingisepp: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 117 (1937). — Lendle: unveröffentlichte Versuche. — Lendle u. Pusch: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 550 (1935). — Louw: South-Afric. Ind. Chem. Nat. **136**, 503 (1949). — Neumann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 103 (1949). — Nyaryi, von: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **165**, 432 (1932). — Redonnet-Alday: zit. nach Svec u. Hasic. — Reinert: Arch. exper. Pat. u. Pharm. **215**, 1 (1952). — Rothlin u. Schalch: Helvet. physiol. pharmacol. acta **10**, 427 (1952). — Rothlin: Proc. Rudolf Virchow Med. Soc. N. Y. **6**, 74 (1947). — Stephen: zit. nach Louw. — Stoll: Pharmazie, Berlin **5**, 328 (1950). — Straub: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 427 (1942). — Suter: Helvet. physiol. et pharmacol. acta **2**, 211 (1944). — Švek u. Hasíc: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 387 (1942). — Tschesche und Höttemann: Chem. Ber. **86**, 392 (1953).

Dr. H. Rohr, Pharmakol. Inst. der Univ. Göttingen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 385—393 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Akademie für medizinische Forschung und Fortbildung der Justus-Liebig-Hochschule Gießen
(Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt).

Zur Kenntnis der Kreislaufwirkung des Peripherin*.

Von
Hans-Jürgen Kuschke und Erik Westermann.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Februar 1953.)

Einleitung.

Bei der Auswertung kreislaufaktiver Stoffe im Tier- und Menschenversuch fanden Wezler u. Thauer, daß die Blutdrucksteigerung durch Ephedrin mit einer Senkung des Minutenvolumens und einer Steigerung der peripheren Gesamtwiderstände einhergeht. Durch die Kombination des Ephedrins mit Theophyllin in dem Mengenverhältnis, wie es in dem Präparat Peripherin vorliegt, ließ sich der periphere Widerstand fast auf den Ausgangswert senken bei einer deutlichen Vergrößerung des Minutenvolumens. Diese Befunde konnten von Knebel, Gatzek und Mechelke und weiteren Untersuchern am Menschen im wesentlichen bestätigt werden. Alle Untersucher bedienten sich bei der Bestimmung der Kreislaufgrößen der Methode von Broemser und Ranke bzw. Wezler und Böger.

Aufgabe vorliegender Untersuchung soll es sein, einen Einblick zu erhalten, welcher Anteil an der Kreislaufumstellung unter Peripherin den einzelnen Gefäßgebieten einerseits und dem Herzen andererseits zukommt.

Methodik.

Die Versuche wurden an 20 Hunden im Gewicht von 9—17 kg durchgeführt. Narkose: 1,6 mg/kg Polamivet i. m., eine halbe Stunde später 0,5 cm³/kg Pernocton 10% i. m. In 8 Versuchen wurde Polamivet durch Morphin (6 mg/kg i. m.) ersetzt. Im Verlauf des Versuches mußten meist 1—2mal 2,0 cm³ Pernocton nachinjiziert werden. Atmung durch Trachealkanüle spontan oder künstlich mit Starling-Pumpe. Zur Vermeidung von Wärmeverlusten Einschlagen des Tieres in Zellstoff und Tücher, sowie zeitweise Beheizung des Operationsbrettes. Rectaltemperatur um 37—39° C. Blutdruckmessung in der Art. brachialis oder in der Art. femoralis mit dem photoelektrischen Transmissionsmanometer nach H. Rein. Die Durchblutungsmessung in den verschiedenen Gefäßgebieten erfolgte mit der Diathermie-Thermostromuhr nach H. Rein. Bei jedem Versuch wurde meist die Durchströmung in drei Gefäßen gleichzeitig registriert. An Arterien wurden Thermoelemente vom alten

* In 1 cm³ Peripherin sind 0,048 g Ephedrin und 0,2 g Theophyllin enthalten. Wir danken dem Chemiewerk Homburg für die Überlassung der Versuchsmengen.

Typ (A), an Venen entweder vom Typ A oder solche vom neueren, luftgepolsterten Typ N verwandt. Bei Messungen an der V. cava thor. inf. benutzten wir einen modifizierten Typ (M), bei dem die am Boden der Elementrinne liegenden Thermolötstellen Luftpolsterung besitzen. Es wurden nur solche Elemente verwandt, die im Modellversuch in einer Richtung 4—5mal geeicht waren, dabei einen annähernd gleichen Exponenten ergeben hatten und somit prozentuale Angaben über Durchflußänderungen erlauben.

Um ein relatives Maß für Änderungen des Minutenvolumens zu erhalten, wurde in der Mehrzahl der Versuche ein Element vom Typ M an der V. cava thor. inf. angelegt. Dieses Verfahren hatte gegenüber einer Messung an der Art. pulmonalis den Vorteil, daß an Stelle der für das Tier einen schwereren Eingriff darstellenden Medianspaltung des Thorax das Element durch einen eröffneten Intercostalraum hindurch angelegt werden konnte. Bei gutem Nahtverschluß kann man das Tier danach spontan atmen lassen.

Die zur Injektion kommende Peripherinmenge wurde in 1 cm^2 physiol. NaCl-Lösung gelöst und innerhalb von 15 sec in die V. brachialis bzw. V. femoralis injiziert.

Um die Herz- und Gefäßwirkung besser voneinander trennen zu können, bedienten wir uns des Reaktionsvergleiches bei intraaortaler und intravenöser Injektion. Zur intraaortalen Injektion wurde ein Herzkatheter durch einen Seitenast der Art. femoralis bis in die Aorta thoracica vorgeschoben. Während bei intravenöser Injektion die Substanz in wenigen Sekunden das Herz erreicht und sofort eine Herzwirkung auslösen kann, müßte bei intraaortaler Injektion initial eine reine Gefäßwirkung zu sehen sein, und die Herzwirkung erst mit einer zeitlichen Verzögerung eintreten. Außerdem ist damit zu rechnen, daß die Substanz dann bei gleicher Dosierung in geringerer Konzentration am Herzen zur Wirkung kommt.

Die Dosierung des Peripherins schwankte zwischen 0,002 und 0,01 cm^3/kg, meist wurden 0,004 cm^3/kg injiziert. An einem Tier kamen nicht mehr als zwei Reaktionen zur Auswertung.

Versuchsergebnisse.

Schon die Beurteilung *einer* kreislaufaktiven Substanz stößt auf Schwierigkeiten, die durch die Streuung der Ergebnisse infolge der individuellen Reaktionslage der Versuchstiere bedingt sind. Diese Streuung ist naturgemäß noch größer bei einem Kombinationspräparat mit verschiedenartig wirkenden Komponenten wie es im Peripherin vorliegt.

1. Blutdruck und Herzfrequenz.

Auf *intravenöse* Gabe von Peripherin kam es regelmäßig zu einer Blutdrucksteigerung, die 15—35 sec nach Injektionsbeginn einsetzte. Ihr Maximum wurde in der Regel im Laufe 1 min erreicht und betrug diastolisch im Mittel 35% des Ausgangswertes. Das Verhalten der Blutdruckamplitude war uneinheitlich. Es waren sowohl Zunahme als auch Abnahme zu beobachten. Eine Abnahme der Blutdruckamplitude trat gewöhnlich zusammen mit einer stärkeren Steigerung der Herzfrequenz auf. Die Blutdruckerhöhung dauerte 17—>100 min, durchschnittlich 50 min lang an. Eine direkte Abhängigkeit zwischen Dosierung (0,002 bis 0,01 cm^3/kg) und Dauer und Ausmaß der Drucksteigerung ließ sich nicht feststellen.

Die Blutdrucksteigerung bei *intraaortaler* Injektion war immer schwächer ausgeprägt und konnte auch ganz ausbleiben. Sie setzte am gleichen Tier stets früher ein als bei intravenöser Applikation, 6—24 sec nach Injektionsbeginn. Im Mittel betrug das Maximum der diastolischen Drucksteigerung 17% des Ausgangswertes.

Das Verhalten der *Herzfrequenz* unter Peripherinwirkung zeigte sowohl in qualitativer als auch quantitativer Hinsicht eine Beeinflussung durch Polamivet bzw. Morphin, die zur Narkoseeinleitung benutzt wurden.

Bei *Polamivet-Pernocton* narkotisierten Tieren kam es nach intravenöser Injektion synchron zur Blutdrucksteigerung oder wenige Sekunden danach regelmäßig auch zu einer Steigerung der Herzfrequenz. Ihr Maximum wurde nach etwa 2 min erreicht und betrug im Mittel 45% der Ausgangsfrequenz. 80 min nach Injektion lag sie im Mittel noch 14% über den Ausgangswert. Bei intraaortaler Injektion verlief die Frequenzsteigerung zeitlich protrahiert, erreichte im Mittel ihr Maximum mit 20% des Ausgangswertes erst nach 30 min und war nach 80 min wieder abgeklungen.

In *Morphin-Pernocton*-Narkose war das Frequenzverhalten wechselnd; sowohl bei intravenöser als auch bei intraaortaler Injektion konnten Frequenzsteigerungen und Frequenzminderungen beobachtet werden. Die Frequenzänderungen betrugen jedoch im Mittel nicht mehr als $\pm$ 15%.

Eine Erklärung für das abweichende Frequenzverhalten in Polamivet-Pernocton-Narkose läßt sich in der Tatsache finden, daß im Polamivet 5 mg Polamidon 0,25 mg des atropinartig wirkenden Körpers Diphenyl-piperidino-äthylacetamid zugesetzt sind.

2. Durchblutung in der Vena cava thoracica inferior.

Durch Messung an diesem Gefäß erhielten wir ein relatives Maß für Änderungen des Minutenvolumens.

Zur Auswertung kamen insgesamt 18 Reaktionen. Davon zeigten 13 Reaktionen eine reine Mehrdurchblutung. Im Mittel nahm die Durchblutung innerhalb der ersten Minute nach Injektion um 15% zu, erreichte nach 10 min ihr Maximum mit etwa 22% und ging nach etwa 1 Std auf Ausgangswert zurück. Bei Zweitinjektionen war das Ausmaß der Mehrdurchblutung geringer. 5 Reaktionen zeigten entweder gleich oder nach einer initialen kurzfristigen Mehrdurchblutung eine reine Minderdurchblutung, die in einem Fall bei intraaortaler Injektion wieder in eine Mehrdurchblutung überging.

Der Mehrdurchblutung in der V. cava thor. inf. ging die Herzfrequenzsteigerung und Blutdruckerhöhung in der Regel zeitlich voraus. Bei Betrachtung der Latenzzeit von Injektionsbeginn bis zum Einsetzen der Blutdrucksteigerung, einer auftretenden Herzfrequenz- und Durch-

blutungssteigerung in der V. cava thor. inf. ergaben sich bei *intravenöser* Injektion folgende Verhältnisse: von den 3 Größen änderten sich zuerst stets Blutdruck und Herzfrequenz. Die Herzfrequenzsteigerung setzt in der Regel synchron mit der Blutdrucksteigerung ein, im Mittel nach 25 sec. Die Mehrdurchblutung in der V. cava thor. inf. trat etwa 20 sec später, durchschnittlich 45 sec nach Injektionsbeginn auf (Abb. 1a).

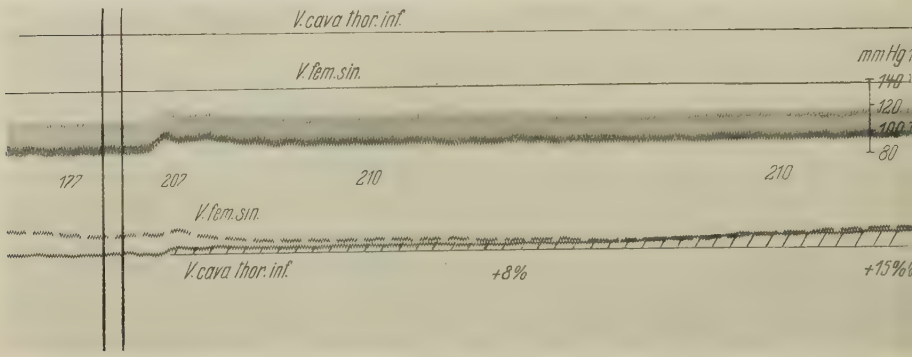


Abb. 1a.

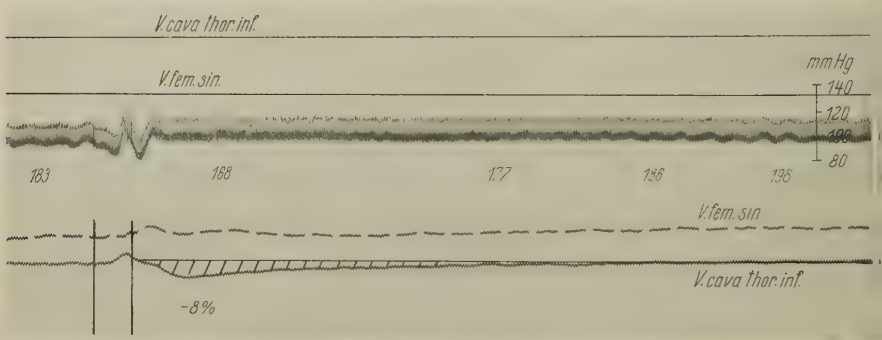


Abb. 1b.

Abb. 1a u. b. Blutdruck, Herzfrequenz und Durchblutung in der V. cava thor. inf. und der V. fem. sin. nach intravenöser Injektion (1a) und intraaortaler Injektion (1b) von 0,004 cm³/kg Peripherin zwischen den Lichtsignalen. Oben Element-Nullinien. Die Zahlen unter dem Blutdruck geben die Herzfrequenz/min an. Zeitschreibung: Registrierstrahl der V. fem. sin. ist alle 15 sec 5 sec lang unterbrochen. Versuch vom 22. 2. 53. Hund von 11 kg in Morphin-Pernocton-Narkose.

Bei *intraaortaler* Injektion änderten sich Blutdruck und Frequenz nicht synchron. Wenn es zu einer Frequenzsteigerung kam, setzte diese später ein (Abb. 1b).

Aus dieser Abbildung geht auch hervor, daß eine deutliche Abhängigkeit zwischen Durchblutung in der V. cava thor. inf. und der Herzfrequenz besteht. In Abb. 1a findet man nach 5 min bei einer Herz-

frequenzsteigerung um 18% eine 8%ige Mehrdurchblutung in der V. cava thor. inf. In Abb. 1b ist die initiale Frequenzsenkung um 8% von einer Minderdurchblutung in der V. cava thor. inf. um 8% begleitet.

3. Durchblutung in der Arteria und Vena mesenterica.

Es kamen insgesamt 11 Reaktionen der *Art. mesenterica* zur Auswertung, die mit einer Ausnahme eine Mehrdurchblutung auf Peripherin zeigten. Dauer und Ausmaß dieser Durchblutungszunahme war inkonstant, verlief aber häufig der Blutdrucksteigerung parallel. Bei 5 von

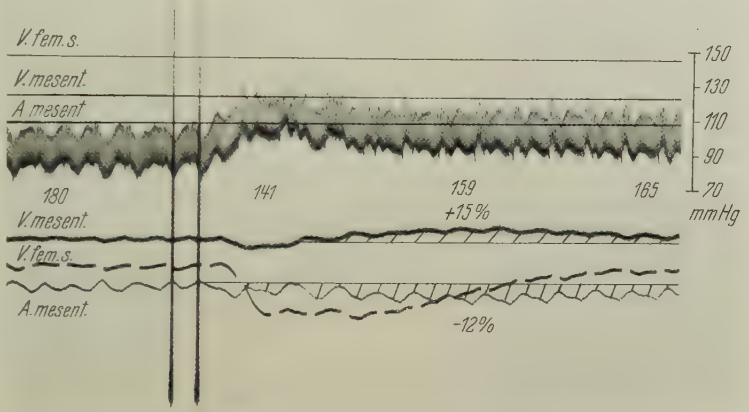


Abb. 2 u. b. Blutdruck, Herzfrequenz und Durchblutung in Art. und V. mesenterica und V. fem. sin. nach intravenöser Injektion von 0,004 cm³/kg Peripherin zwischen den Lichtsignalen. Oben Element-Nullinien. Die Zahlen unter dem Blutdruck geben die Herzfrequenz/min an. Zeitschreibung: Registrierstrahl der V. fem. sin. ist alle 15 sec 5 sec lang unterbrochen. Mehrdurchblutung in der V. mesenterica bei gleichzeitiger Minderdurchblutung in der Art. mesenterica. Versuch vom 28. 1. 53. Hund von 17 kg in Morphin-Pernocton-Narkose.

7 Erstinjektionen kam es initial zu einer geringen Minderdurchblutung innerhalb der ersten Minuten, die zeitlich teils vor teils nach dem Beginn der Blutdrucksteigerung einsetzte. Zwischen den Reaktionen bei intravenöser und intraaortaler Injektion fanden wir keine Unterschiede.

Die Durchblutung der *Vena mesenterica* verhielt sich bei insgesamt 9 Reaktionen im wesentlichen wie die der Art. mesenterica. Jedoch fand sich eine Mehrdurchblutung schon während der initialen Minderdurchblutungsphase der Art. mesenterica (Abb. 2).

4. Milz.

Durch Messungen an der Art. und V. lienalis versuchten wir Volumenänderungen der Milz zu erfassen. Die 6 durchgeführten Reaktionen verliefen unterschiedlich, führten aber zu der Annahme, daß es nach Peripherin zu einer Milzentspeicherung kommt. Ein ergänzender Kontroll-

versuch in onkometrischer Methodik bestätigte diese Vermutung. Nach intravenöser Injektion von 0,004 cm³/kg Peripherin trat eine starke Volumenabnahme der Milz ein, die erst nach etwa 60 min, entsprechend dem Rückgang der Blutdrucksteigerung, auf Ausgangsvolumen zurückkehrte.

5. Durchblutung in der Arteria und Vena femoralis.

Bei 12 intravenösen Erstinjektionen zeigte sich an der V. fem. ein inkonstantes Verhalten der Durchblutungsänderungen auf Peripheringabe. Bei Berücksichtigung der unterschiedlichen Narkose ließ sich je-

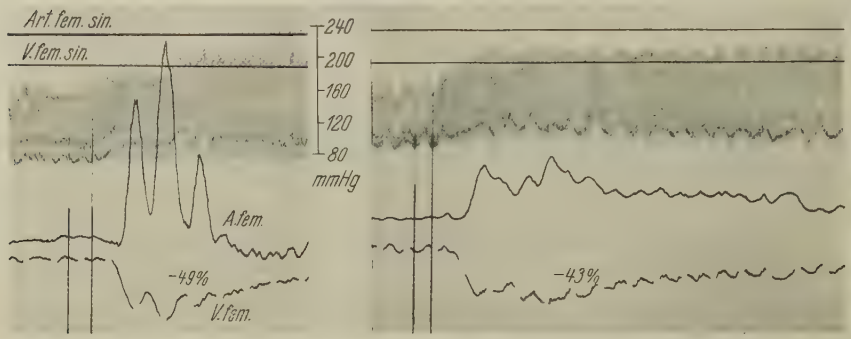


Abb. 3a. Abb. 3b.

Abb. 3a u. b. Blutdruck und Durchblutung in der Arteria und Vena femoralis. 3a: nach Erstinjektion von 0,004 cm³/kg Peripherin intravenös. 3b: nach vierter Injektion von 0,01 cm³/kg Peripherin intravenös am gleichen Tier. Oben Element-Nullinien. Zeitschreibung: Registrierstrahl der V. fem. ist alle 15 sec 5 sec lang unterbrochen. Versuch vom 22. 1. 53. Hund von 17 kg in Morphin-Pernocton-Narkose.

doch eine gewisse Regelmäßigkeit der Gefäßreaktion erkennen. Bei Tieren in Polamivet-Pernocton-Narkose kam es nach einer initialen Mehrdurchblutung in den ersten Minuten zu einer langdauernden Minderdurchblutung. Tiere in Morphin-Pernocton-Narkose dagegen zeigten eine langdauernde Mehrdurchblutung, während initial sowohl Mehr- als auch Minderdurchblutungen auftraten, wobei nach intraaortaler Injektion häufiger Minderdurchblutung zu beobachten war. Die Durchblutungsänderungen in der Art. fem. verliefen denen in der V. fem. parallel.

Bei initialer Minderdurchblutung sahen wir, wenn die Injektionen mehrfach wiederholt wurden, eine deutliche Wirkungsabschwächung, wie sie in Abb. 3 wiedergegeben ist. Am gleichen Tier führte die 4. Injektion von 0,01 cm³/kg zu einer geringeren Minderdurchblutung als 0,004 cm³/kg bei der ersten Injektion.

In einigen Fällen traten an der Arterie Mehrdurchblutungsreaktionen auf bei gleichzeitiger Minderdurchblutung in der Vene derselben Extremität. Diesen Reaktionsausfall halten wir jedoch nicht für reell, sondern es handelt sich hierbei um eine qualitativ falsche Anzeige des Thermoelementes an der Arterie (Abb. 3a und 3b).

Dörner beschreibt diese fehlerhafte Anzeige der Thermoelemente an der Arteria femoralis eingehend und führt sie auf eine Ablösung der Gefäßwand von der Elementrinne infolge Gefäßkontraktion zurück.

In Abb. 3a ist die fehlerhafte Anzeige leicht erkennbar; die Ausschläge in Richtung der Element-Nullinie an der Art. fem. verhalten sich genau spiegelbildlich zu den Minderdurchblutungswellen in der Vene und gehen dabei teilweise bis zur Element-Nullinie zurück. Den Reaktionsausfall in Abb. 3b könnte man bei alleiniger Betrachtung der Arteriendurchblutung für reell halten. Bei prozentualer Auswertung würde die Mehrdurchblutung innerhalb der ersten beiden Minuten nach Injektion bis zu 120% und nach 10 min noch 14% betragen, was an diesem Gefäß

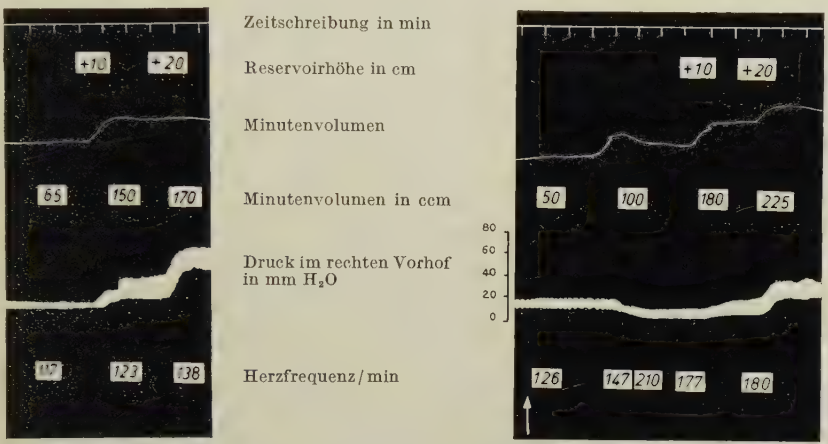


Abb. 4. Herz-Lungen-Präparat nach Starling. Links: Minutenvolumen, Druck im rechten Vorhof und Herzfrequenz bei Steigerung des venösen Zuflusses durch Erhöhung des Reservoirs. Rechts: gleiche Belastung nach vorheriger Gabe von 0,0005 cm³ Peripherin (↑). Versuch am 19. 2. 53. Hund von 6,5 kg.

nicht ungewöhnlich wäre. Die Minderdurchblutung an der gleichzeitig registrierten Vene macht dies jedoch schon äußerst unwahrscheinlich. Denn es ist nicht anzunehmen, daß das Gefäßbett der Extremität eine derartige Kapazitätszunahme erfährt.

In einem orientierenden Versuch hatten wir Gelegenheit, Peripherin auch am Herz-Lungen-Präparat an einem spontan leicht insuffizienten Herzen zu untersuchen. In dieser Methodik ließ sich die auf Grund unserer bisherigen Untersuchungen angenommene Herzwirkung des Peripherin direkt nachweisen (Abb. 4).

Auf der linken Kurve geht die beginnende Insuffizienz des Herzens deutlich aus dem verhältnismäßig starken Anstieg des Druckes im rechten Vorhof und der zwar noch deutlichen, aber doch nicht sehr ausgesprochenen Steigerung des Minutenvolumens hervor. Bei Höherstellung des Reservoirs um 10 bzw. 20 cm über Herzniveau steigt das Minutenvolumen von 65 auf 150 bzw. 170 cm³ unter geringer Steigerung der Herzfrequenz an. Gleichzeitig steigt der Vorhofdruck auf 40 bzw. 65 mm H_2O. Nach der Peripheringabe (rechte Kurve) von 0,0005 cm³ — diese Dosis ist errechnet aus der Dosierung am Ganztier in den vorhergehenden Versuchen in Höhe von 0,004 cm³/kg unter Berücksichtigung des auf das Herz entfallenden Anteils in Höhe von 1—2% — sinkt der Druck im rechten Vorhof geringgradig ab und das Minutenvolumen wird auf den doppelten Wert bei starker Frequenz-

steigerung erhöht. Unter der gleichen Belastung des Herzens (Höherstellung des Reservoirs um 10 bzw. 20 cm) steigt nunmehr das Minutenvolumen auf 180 bzw. 225 cm^3, während gleichzeitig der Druck im rechten Vorhof nur einen Wert von 30 mm H_2O erreicht.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Wezler u. Thauer, Knebel, Gatzek u. Mechelke u. a. fanden, daß die Blutdrucksteigerung auf Peripherin in der Regel mit einer Erhöhung des Minutenvolumens und der Herzleistung bei gleichbleibenden peripheren Widerständen einhergeht. Bei unseren Durchblutungsmessungen an der V. cava thor. inf. konnten auch wir feststellen, daß das Minutenvolumen durch Peripherin meist erhöht wird.

Wir versuchten die Frage zu klären, ob die Erhöhung des Minutenvolumens primär durch ein erhöhtes venöses Angebot infolge Entleerung der Blutspeicher oder durch Erhöhung der Herzarbeit bedingt ist.

Wir fanden, daß bei intraaortaler Peripherinapplikation Herzfrequenz- und Minutenvolumensteigerung später und in geringerem Ausmaß einsetzten als bei intravenöser Injektion. Außerdem konnten wir oft beobachten, daß eine Minutenvolumensteigerung nur dann eintrat, wenn es auch zu einer Herzfrequenzsteigerung kam (Abb. 1a und 1b). Auf Grund dieser Befunde nehmen wir an, daß die Minutenvolumensteigerung nach Peripherin in erster Linie einer direkten Wirkung dieser Substanz auf das Herz zuzuschreiben ist. Eine Bestätigung hierfür gibt uns der am Herz-Lungen-Präparat erhobene Befund.

Diese Herzwirkung dürfte auch für die Blutdrucksteigerung mitverantwortlich sein, denn wir sahen bei intravenöser Injektion gewöhnlich ein synchrones Einsetzen von Blutdruck- und Frequenzsteigerung. Die Blutdrucksteigerung war bei intraaortaler Injektion meist schwächer ausgeprägt, setzte aber früher ein als bei intravenöser Injektion. Dieses Verhalten spricht dafür, daß bei der initialen Blutdrucksteigerung auch Widerstandserhöhungen eine Rolle spielen. In diese Richtung deuten auch die Femoral- und Mesenterialarterie beobachteten initialen Minderdurchblutungen.

Bei der Mehrdurchblutung im Mesenterialgebiet scheint es sich im wesentlichen um ein druckpassives Verhalten zu handeln. Bemerkenswert ist die in Abb. 2 wiedergegebene Reaktion, bei der die Vene schon eine Mehrdurchblutung zeigt, während die Arterie noch minderdurchblutet ist. Wahrscheinlich handelt es sich hierbei um eine Blutentspeicherung aus dem venösen Mesenterialstrombett. Es müßte demnach zu einer Tonisierung der Venolen kommen. Brehm schreibt auf Grund seiner Untersuchungen beim orthostatischen Kreislaufversagen dem Peripherin eine solche Wirkung zu.

An der Erhöhung der zirkulierenden Blutmenge ist die Milz beteiligt. Die Tatsache, daß im onkometrischen Versuch das Milzvolumen erst mit

Abklingen der Blutdrucksteigerung seinen Ausgangswert erreichte, spricht dafür, daß der Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge eine Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Blutdruckerhöhung zukommt.

Das wechselhafte Verhalten der Gefäße, insbesondere der Extremitätengefäße, mag bedingt sein durch eine unterschiedliche, individuelle Ansprechbarkeit der Tiere auf beiden Komponenten Ephedrin und Theophyllin. Die Durchblutungsreaktion der Femoralgefäße bei intraaortaler Injektion weist darauf hin, daß die lokale Peripherinwirkung eine constrictorische ist. Das weitere Verhalten der peripheren Durchblutung ist unseres Erachtens weitgehend abhängig von der individuell verschiedenen Reaktion des Gesamtkreislaufs. Bezüglich der initialen Minderdurchblutung an den Extremitätengefäßen konnten wir eine Wirkungsabschwächung bei wiederholter Injektion feststellen (Abb. 3a und 3b) und nehmen an, daß darin die bekannte tachyphylaktische Eigenschaft der Ephedrinkomkonente zum Ausdruck kommt.

Zusammenfassung.

Peripherin in der Dosierung von 0,002—0,01 cm^3/kg führte bei intravenöser Injektion an 20 narkotisierten Hunden regelmäßig zu einer Blutdrucksteigerung, die bei intraaortaler Injektion schwächer ausgeprägt war oder fehlte.

Die Durchblutung in der Vena cava thor. inf., als relatives Maß des Minutenvolumens, wurde gewöhnlich erhöht. Dem ging meist eine Steigerung der Herzfrequenz voraus, die bei intraaortaler Injektion später einsetzte als bei intravenöser Injektion und schwächer ausgeprägt war.

Aus Milz und Darmgefäßgebiet kam es zur Blutentspeicherung, in der Peripherie oft zu einer länger dauernden Durchblutungssteigerung.

Es wird angenommen, daß die Minutenvolumensteigerung nach Peripherin am narkotisierten Hund durch eine direkte Herzwirkung und eine Vergrößerung der zirkulierenden Blutmenge bedingt ist.

Literatur.

Brehm, H.: Medizinische, Stuttgart **1952** Nr. 19. — Dörner, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. in Vorbereitung. — Gatzek, H., u. K. Mechelke: Z. Kreislaufforschg. **37**, 673 (1948). — Knebel, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 615 (1947). — Rein, H.: Erg. Physiol. **45**, 514 (1945). — Pflügers. Arch. **243**, 329 (1940). — Wezler, K., u. R. Thauer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 105 (1943).

Dr. Hans-Jürgen Kuschke, Dr. E. Westermann,
Pharmakologisches Institut d. Justus-Liebig-Hochschule Gießen,
z. Zt. Bad Nauheim, Kerckhoff-Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 394—400 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Studien zu den Reduktionsvorgängen in der belichteten Haut.

Von
E. Roesch.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Februar 1953.)

In seinen Arbeiten über die Wirkungen des ultravioletten Lichtes auf die Haut hat Wels[7] die Hypothese aufgestellt, daß die biologische Wirkung dieser Strahlen im wesentlichen auf einer Aktivierung von Reduktionsvorgängen beruht, die vorwiegend durch die fixen SH-Gruppen der Haut bewirkt werden.

Die erste Grundlage für diese Hypothese stellten Versuche dar, in denen die Beschleunigung der Reduktion von Natriumtellurit zu elementarem Tellur in der Haut eines Schweineohres nachgewiesen wurde[8]. Das entstandene metallische Tellur lagert sich dabei überwiegend in einer breiten Schicht an der Basis des Stratum germinativum ab. Das ist die gleiche Region, welche auch die Nitroprussidnatriumreaktion gibt und dadurch als sulfhydrilhaltig gekennzeichnet ist. Später wurden diese Befunde durch Verwendung von anderen Metallsalzen und Farbstoffen erweitert (Ortmann[4], Urban[6]). Ortmann benutzte als Reduktionsindicatoren am durchströmten Ohr die Farbstoffe Dehydroindigo-Natriumbisulfit (DHI) und Nitroanthrachinondisulfosäure (NAC). Beide Stoffe sind in Lösung schwach gefärbt und liefern kräftig gefärbte Reduktionsprodukte: aus dem gelbgrünen DHI entsteht ein tiefblauer Indigofarbstoff, aus dem blaßgelben NAC die leuchtendrote Aminoanthrachinon-Verbindung (AAC). Eine mikroskopische Lokalisierung der Hautfärbung in der sulfhydrilhaltigen Basalzellenlage der Keimschicht, wie sie beim Tellurit möglich war, gelang bei diesen beiden Farbstoffen nicht. Die Niederschläge der aus DHI entstandenen Indigoverbindung fand Ortmann nicht nur in der Keimschicht, sondern sogar in noch dichterer Anordnung auch im Corium. Bei mit NAC durchströmten Ohren konnte er überhaupt keine Niederschläge erkennen, sondern nur eine diffus über die Hautschichten verteilte Anfärbung. Dabei war der Farbunterschied zwischen bestrahlter und unbestrahlter Haut gering, was in auffallendem Gegensatz zu dem sehr eindrucksvollen makroskopischen Bild steht.

Die Frage, ob DHI und NAC in der bestrahlten Haut vorwiegend von SH-Gruppen reduziert werden, ist deshalb offen geblieben. So lag es nahe, die Reduktionskraft der Haut gegenüber DHI und NAC nach Ausschaltung der Sulfhydrilgruppen zu prüfen, um dadurch der Beantwortung dieser Frage näherzukommen. Zur Ausschaltung benutzte ich wie Wels[7] und Urban[6] das bekannte SH-Gift Monojodessigsäure.

Die Arbeit hatte aber nicht allein dieses Ziel. Die in den Modellversuchen aufgefundene Reduktion von Stoffen, die der belichteten Ohrhaut bei der Durchströmung zugeführt werden, hat nur dann eine allgemeine

physiologische Bedeutung, wenn das Reduktionsprodukt nicht als unlöslicher Stoff in der Haut liegen bleibt, sondern die Haut mit dem Flüssigkeitsstrom auch wieder verläßt. Nur in diesem Falle ist es sinnvoll, die Modellstoffe etwa mit Fermenten oder Hormonen zu vergleichen, die — durch Oxydation unwirksam geworden — in der belichteten Haut durch Reduktion wieder aufgefrischt werden und nun mit dem Blutstrom in aktivem Zustand in das Körperinnere zurückkehren könnten. Beim Tellurit ist ein solcher Vergleich nicht möglich, denn das durch Reduktion in der belichteten Haut entstehende unlösliche elementare Tellur schlägt sich in der Haut nieder und erzeugt ja gerade aus diesem Grunde die besonders deutlichen Schwärzungen an den belichteten Hautstellen. Der aus dem DHI entstehende blaue Indigofarbstoff scheint sich nicht wesentlich anders zu verhalten. Beim NAC dagegen färbt das durch Reduktion entstehende rote AAC zwar auch die Haut deutlich an, geht aber auf Grund seiner Wasserlöslichkeit auch in die aus dem durchströmten Ohr wieder ausfließende Lösung über.

In den vorangegangenen Arbeiten wurde dieser Umstand offenbar übersehen. Die schwerere Anfärbbarkeit der Ohrhaut in den NAC-Versuchen, die schon in den ersten Arbeiten aufgefallen war, braucht deshalb gar nicht, wie Ortmann meint, auf der schwereren Reduzierbarkeit des Stoffes zu beruhen (weil dabei 6 Wasserstoffatome pro Molekül übertragen werden müssen), sondern kann einfacher dadurch erklärt werden, daß ständig ein Teil des entstandenen AAC wegen dessen Wasserlöslichkeit wieder abfließt.

Im Hinblick auf den Vergleich mit den körpereigenen Wirkstoffen erschien es deshalb lohnend, den AAC-Gehalt der abfließenden Durchströmungsflüssigkeit bei bestrahlten und unbestrahlten Ohren messend zu verfolgen.

I. Durchströmungsversuche an Kaninchenohren mit Dehydroindigo-Natriumbisulfit (DHI).

Methodik. Zum Versuch wurden beide Ohren frisch geschlachteter weißer Kaninchen verwendet. Die Durchströmung erfolgte mit glucosefreier Tyrode-Lösung unter einem Druck von 20—40 cm Wasser zunächst so lange, bis die ausfließende Lösung kein Blut mehr enthielt. In einigen Versuchen wurde die Durchströmung des einen Ohres mit 50—100 cm^3 einer 0,5% Na-Monojodacetat enthaltenden Tyrode-Lösung fortgesetzt. An diese Vorbehandlung schloß sich die DHI-Durchströmung an (0,5% des Farbstoffes in Tyrode-Lösung). Gleichzeitig wurde mit der Bestrahlung des einen Ohres oder beider Ohren mit einer Hanauer Quarzlampe aus einer Entfernung von 30 cm begonnen. Ein Hautstreifen des bestrahlten Ohres — durch schwarzes Papier vor den Strahlen geschützt — diente zur Kontrolle. Die in die Ohrarterie eingebundene Glaskanüle wurde ebenfalls mit schwarzem Papier abgedeckt. Um eine stärkere Erwärmung zu vermeiden, wurde das bestrahlte Ohr durch einen Luftstrom (Ventilator) gekühlt. Die Bestrahlung dauerte 30 min.

Versuchsergebnis. Die bestrahlte Haut der mit DHI durchströmten Ohren entwickelte innerhalb von 30 min eine kräftigblaue Verfärbung,

während die unbestrahlte Haut in der gleichen Zeit nur die schwach gelbgrüne Farbe des DHI annahm (Ortmann[4]). Wenn beide Ohren in der beschriebenen Weise bestrahlt wurden, eines jedoch nach vorheriger Durchströmung mit Monojodacetat in 0,5%iger oder Arsenik in 0,2%iger Lösung, zeigte sich, daß an den mit den SH-Giften vorbehandelten Ohren die Blaufärbung bei der Bestrahlung mit der gleichen Geschwindigkeit und Intensität eintrat wie bei den unvergifteten Kontrollohren. Daß das Haut-SH durch die vorangegangene SH-Gift-Durchströmung auch wirklich ausgeschaltet war, bewies nachträgliche Durchströmung beider Ohren mit Natriumtellurit 1:1000, bei der sich nur das unvergiftete Ohr schwärzte.

Das DHI läßt sich für einen solchen Vergiftungsnachweis nur benutzen, wenn man *nicht bestrahlt* und lange genug durchströmt. Nach 5 Std langer Durchströmung färbt sich dann das unvergiftete Ohr deutlich blau. Beim vergifteten Ohr bleibt dagegen diese Bläuung wie die Schwärzung mit Tellurit völlig aus. Danach ist also richtig, daß dieser Reduktionsvorgang vom Haut-SH bewerkstelligt wird.

Für den stark beschleunigten Reduktionsablauf in der *bestrahlten* Haut unserer Kaninchen muß dagegen ein anderes durch Monojodacetat nicht hemmbares reduzierendes Agens verantwortlich sein. Es war vor allem die Möglichkeit zu prüfen, ob die in der Haut neben dem Sulfhydril ebenfalls vorhandene Ascorbinsäure bei der Reduktion des DHI eine Rolle spielen könnte. Deshalb stellten wir Reagensglasversuche an, bei denen wir Cystein und Ascorbinsäure vergleichsweise als Reduktionsmittel dem DHI zusetzten.

II. Reagensglasversuche mit Dehydroindigo-Natriumbisulfit.

Methodik. Bei diesen Versuchen wurden in 4 Quarzgläser gleiche Mengen einer 0,5%igen DHI-Lösung (gelöst in m/6 Phosphatpuffer nach Sörensen, p_H 7,4) gegeben. In einer Versuchsreihe wurde jedem Glas das gleiche Volumen wäßriger mit NaOH neutralisierter Ascorbinsäurelösung, in einer anderen das gleiche Volumen einer mit NaOH neutralisierten, wäßrigen Cystein-HCl-Lösung zugesetzt. Jeweils 3 dieser Quarzgläser wurden mit einer Hanauer Quarzlampe aus 30 cm Entfernung bestrahlt. Während das erste Glas das volle Strahlenspektrum der Quarzlampe erhielt, wurde beim zweiten der kurzwellige Anteil der UV-Strahlung durch das Schott-Filter BG 19 und beim dritten die gesamte UV-Strahlung durch die Schott-Filterkombination BG 19 + GG 15 absorbiert[5]. Das vierte Quarzglas wurde unter sonst gleichen Bedingungen, aber unter Lichtabschluß, verwahrt. Nach 30 min langer Bestrahlung wurde die Menge des ausfallenden Indigo-Farbstoffes nach Aufschütteln der Suspension mit bloßem Auge beurteilt.

Versuchsergebnis. Es ergab sich, daß innerhalb von 30 min weder n/800-Cystein noch n/1600-Ascorbinsäure (bezogen auf molare Reduktionsvalenzen) unter Lichtabschluß eine merkbare Reduktion des DHI hervorrufen. Bei Belichtung dagegen tritt in der gleichen Beobachtungszeit eine deutliche Blaufärbung ein, die sich bei beiden Versuchsreihen mit zunehmendem Anteil von UV an der Bestrahlung verstärkt. — Ascorbinsäure übt also auf diesen Farbstoff eine stärkere

Reduktionswirkung aus als Cystein, da sie den gleichen Effekt in halb so starker Konzentration auslösen kann. Es besteht deshalb sehr wohl die Möglichkeit, daß bei den Hautversuchen mit Aktivierung der DHI-Reduktion durch das Licht als Wasserstoffdonator die Ascorbinsäure der Haut in Frage kommt.

Den Nachweis über das Vorkommen von Ascorbinsäure in der Haut haben Giroud u. Mitarb.[3] erbracht. Sie fanden beim Meerschweinchen in der Rückenhaut 5 mg%, in der Haut der Fußsohle 8 mg% und in der Haut des Pferdeschwanzes 2—7 mg%. Einen Einblick in die Verteilung der Ascorbinsäure auf die verschiedenen Hautschichten vermitteln die von denselben Autoren durchgeführten Analysen der Hornschwiele der Pferdes: 3 mg% enthielt die Unterhaut, 11 mg% die Keimschicht und 1 mg% die Hornschicht. 3½ min lange UV-Bestrahlung vermindert nach Cornbleet[2] beim Menschen den Vitamin C-Gehalt der bestrahlten Haut; Castellino[1] fand bei Meerschweinchen nach 1—3 UV-Bestrahlungen von je 5 min Dauer eine Zunahme, nach 20—25 min langen Bestrahlungen mit ultraviolettem Licht dagegen eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes in den bestrahlten Hautbezirken.

Von Interesse wäre es auch, wenn die Ortmannschen Versuche über den Reduktionsanteil, der auf die Lichtwirkung allein (ohne Gegenwart jedes besondere zugesetzten Reduktionsmittels) zu beziehen ist, einer Nachprüfung unter genauerer Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse unterzogen würden*.

III. Durchströmungsversuche an Kaninchenohren mit Nitroanthrachinondisulfosäure (NAC).

Die zweite Fragestellung galt dem Nachweis, daß der in der belichteten Haut reduzierte Modellstoff NAC dort nicht liegen bleibt, sondern die Haut in reduziertem Zustande auf dem Blutwege wieder verlassen kann.

Methodik. Die Versuche wurden in ähnlicher Weise wie die vorher beschriebenen DHI-Versuche an isolierten Kaninchenohren durchgeführt, doch nahmen wir einige methodische Verbesserungen vor. Um die aus den Ohren ausfließende Lösung möglichst klar und ohne Verluste auffangen zu können, fixierten wir die Ohren auf Glasplatten, die nach unten zu in eine Spitze ausliefen und deren seitliche Ränder mit einem Wall aus festem Paraffin versehen waren. Die Vorratsgefäße aus Jenaer Glas hatten einen Hohlmantel, der von einem Höppler-Thermostaten aus mit 40° warmem Wasser durchspült wurde. Vor die Arterienkanüle aus Glas war ein kleiner 3 cm langer Schlangenkühler geschaltet, durch dessen Schlange die Durchströmungsflüssigkeit floß und dessen Mantel ebenfalls vom Höppler-Thermostaten erwärmt wurde. — In einer 2—3 Std dauernden Vordurchströmung mit Tyrode-Lösung wurden die Ohren zunächst blutfrei gespült. Für die Versuche wurden nur

* Nach einer brieflichen Mitteilung von P. Wels sind inzwischen im Greifswalder Institut einige Versuche dieser Art von K. Femmer angestellt worden. Sie ergaben, daß eine Reduktion des DHI durch das Quarzlampenlicht allein erst bei alkalischer Reaktion in größerem Ausmaße stattfindet. Dann beginnt sich der Einfluß zugesetzten Cysteins oder zugesetzter Ascorbinsäure zu verwischen. Beim p_H des Blutes und erst recht bei deutlich saurer Reaktion ergibt sich aber eindeutig, daß die reduktionssteigernde Wirkung des Lichtes an die Gegenwart der beiden körpereigenen reduzierenden Stoffe gebunden ist.

Ohrpaare verwendet, die unter annähernd gleichem Druck gleiche Durchströmungsgeschwindigkeit aufwiesen. Geringe Schwankungen der Tropfenfolge während des Versuches wurden durch entsprechende Änderung des Durchströmungsdruckes laufend ausgeglichen. Bei Beginn des Versuches erhielt jedes Vorratsgefäß 25 cm³ der 0,05% NAC* enthaltenden Tyrode-Lösung (Schlauch und Kanüle enthielten 5 cm³, so daß — unter Vernachlässigung des im Ohr enthaltenen Flüssigkeitsvolumens — eine Durchströmungsmenge von 30 cm³ resultierte). Gleichzeitig begann die Quarzlampenbestrahlung des einen Ohres aus einer Entfernung von 30 cm. Zur Vermeidung stärkerer Erwärmung wurde das bestrahlte Ohr durch einen Luftstrom (Ventilator) gekühlt. Alle Glasgefäße, Kanülen usw. waren durch schwarzes Papier vor den Strahlen geschützt. — Die aus den Ohren ausgeflossene Lösung wurde in Portionen von je 10 cm³ wieder in die Vorratsgefäße zurückgegossen. Auf diese Weise wurde erreicht, daß das Volumen von 30 cm³ während der 2stündigen Bestrahlung etwa 6—10mal durch die Ohren hindurchfloß. Die zum Schluß des Versuches gesammelte Lösung wies infolge ihres Gehaltes an AAC, das durch Reduktion von NAC entstanden war, eine rötliche Verfärbung auf. Die Lösung wurde durch Versetzen mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols und anschließendes Filtrieren geklärt; danach konnte die Farbintensität mit dem Pulfrich-Photometer bei 3 bzw. 5 cm Schichtdicke unter Verwendung von Filter S 50 gemessen werden. Als Vergleichslösung diente eine entsprechend angesetzte NAC-Tyrode-Lösung. Die Eichung führten wir mit einer unter gleichen Bedingungen angesetzten AAC-Standardlösung durch. — Bei einem Teil der Versuche wurden auch noch Preßsäfte der in kleine Stückchen geschnittenen Ohren in der gleichen Weise wie die Durchströmungsflüssigkeit behandelt und dann colorimetriert. — Da infolge der stärkeren Verdunstung vom bestrahlten Ohr häufig weniger Durchströmungslösung oder Preßsaft wiedergewonnen wurde als vom unbestrahlten, füllten wir die Lösungen aus dem bestrahlten Ohr mit destilliertem Wasser auf das Volumen der Lösungen aus dem Kontrollrohr auf. Bei allen Versuchen wurde NAC-haltige Tyrode-Lösung in einem Quarzglas im gleichen Abstand vom Quarzbrenner wie das Ohr mitbestrahlt. Dabei zeigte sich, daß beim NAC schon durch die Bestrahlung allein (ohne Anwesenheit eines Reduktionsmittels) etwas AAC entsteht, doch sind die Mengen so gering, daß sie ohne Bedenken vernachlässigt werden können, zumal die Kontroll-Lösungen in den Quarzgläsern ja wesentlich mehr Strahlung erhielten als die durch das Ohr zirkulierende Versuchslösung in der gleichen Zeit.

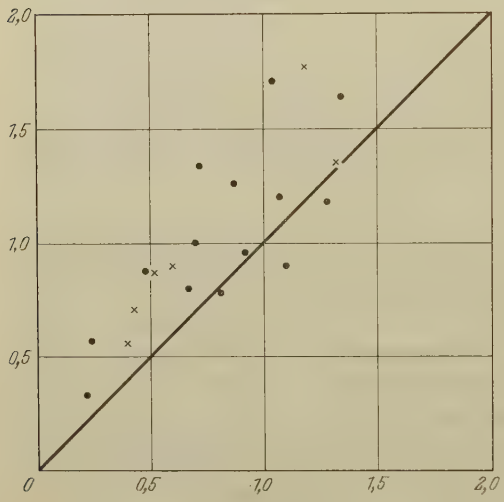


Abb. 1. Durchströmungslösungen. – Ordinate: mg% AAC in der Lösung vom bestrahlen Ohr; Abszisse: mg% AAC in der Lösung vom unbestrahlten Ohr; • Bestrahlung ohne Filter; × Bestrahlung durch Filter BG 19.

* „Nitroanthrachinon für biologische Zwecke" wurde uns freundlicherweise vom Bayerwerk Leverkusen zur Verfügung gestellt.

Versuchsergebnis. Die Ergebnisse der Versuche sind in den Abb. 1 und 2 graphisch dargestellt. Jeder Punkt gestattet auf der Ordinate die Ablesung des AAC-Gehalts der Lösung vom bestrahlten Ohr, auf der Abszisse den der Lösung vom unbestrahlten Kontrollohr. Auf der ausgezogenen Diagonalen liegen die Punkte, die bei gleicher AAC-Konzentration in der Lösung vom bestrahlten und vom unbestrahlten Ohr resultieren würden.

Aus den Abbildungen ist ersichtlich, daß im Ohr während der Bestrahlung mehr NAC zu AAC reduziert worden ist als im unbestrahlten Kontrollohr. Das gilt sowohl für die Bestrahlung mit dem vollen Quarzlampenlicht (•) wie auch für die Bestrahlung nach Abfilterung des kurzwelligen Anteils des Ultravioletts (×). In Abb. 2 liegen alle Punkte über der Diagonalen, in Abb. 1 der weitaus größte Teil, d. h. bei den Preßsäften tritt dieser Unterschied noch deutlicher hervor als bei den Durchströmungslösungen. Allerdings ist die Differenz in Anbetracht der Streuung statistisch nicht signifikant.

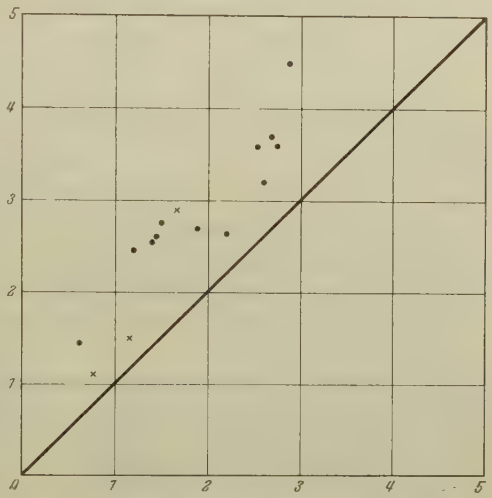


Abb. 2. Preßsäfte. — Ordinate: mg% AAC in der Lösung vom bestrahlten Ohr; Abszisse: mg% AAC in der Lösung vom unbestrahlten Ohr; • Bestrahlung ohne Filter; × Bestrahlung durch Filter BG 19.

Um nachzuweisen, daß bei der Beschleunigung der AAC-Bildung in der bestrahlten Haut die Gegenwart des Haut-SH wichtig ist, schalteten wir in einigen Versuchen das Haut-SH aus, indem wir vor Beginn der Bestrahlung das eine Ohr mit 300 cm³ einer Tyrode-Lösung durchströmten, der neutralisierte Monojodessigsäure oder Maleinsäure zugesetzt war, anschließend mit reiner Tyrode-Lösung nachspülten und dann beide Ohren bei Durchlauf von NAC bestrahlten.

Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, war bei allen 5 Versuchen die AAC-Bildung in den vergifteten Ohren im Vergleich mit unvergifteten Kontrollohren gehemmt, obwohl die Giftkonzentrationen klein waren (um 2—3 Zehnerpotenzen kleiner als die in Abschnitt I benutzten). Die Bedeutung des Haut-SH ist danach unzweifelhaft. Gleichwohl besteht auch hier die Möglichkeit, daß die Ascorbinsäure an der Reduktion des NAC beteiligt ist.

Wir stellten deshalb einige vorläufige Reagensglasversuche an, in denen wir Cystein und Ascorbinsäure miteinander verglichen. Sie ergaben bereits mit Sicherheit,

daß auch die Ascorbinsäure NAC zu reduzieren vermag, im Dunkeln sogar besser als Cystein. Die Reduktionsbeschleunigung durch das Quarzlampenlicht, die beim Cystein ganz erheblich ist, ist jedoch bei der Ascorbinsäure nur sehr gering.

Tabelle 1.

Versuch Nr.	Vordurchströmung mit	mg% AAC Kontroll-Ohr	mg% AAC vergiftetes Ohr	Differenz in Prozent
1.	Na-Monojodacetat m/1000	1,35	0,91	—33
2.*	Na-Monojodacetat m/3000	0,84	0,45	—46
3.	Na-Monojodacetat m/10000	0,69	0,39	—43
4.	Na-Maleat m/100	1,26	0,25	—80
5.*	Na-Maleat m/1000	1,14	0,70	—39

* Bestrahlung unter Vorschaltung von Schott-Filter BG 19, welches den kurzwelligen Anteil des UV-Lichtes abschneidet.

Zusammenfassung.

Im Anschluß an frühere Arbeiten des Instituts wurden Versuche über die Reduktionsvorgänge in der belichteten Haut angestellt. Als Reduktionsindicatoren dienten Dehydroindigo und Nitroanthrachinon. Dabei ergaben sich nach zwei Richtungen hin Ergänzungen der vorangegangenen Ergebnisse:

1. Am Dehydroindigo ließ sich wahrscheinlich machen, daß bei den durch Licht beschleunigten Reduktionswirkungen der Haut nicht nur die Sulfhydrilkörper beteiligt sind, sondern daß dabei in wesentlicher Weise auch die Ascorbinsäure mitwirkt.

2. Am Nitroanthrachinon konnte nachgewiesen werden, daß sein Reduktionsprodukt die Haut mit der Durchströmungsflüssigkeit verläßt. Dieser Nachweis berechtigt zur Übertragung der Ergebnisse solcher Modellversuche auf die physiologischen Verhältnisse, wie sie bei den Wirkungen der Hautbelichtung auf den Gesamtorganismus entstehen.

Literatur.

[1] Castellino, P. G.: Giorn. ital. Dermat. **77**, 967 (1936), zit. nach Ber. ges. Physiol. **100**, 181 (1937). — [2] Cornbleet, T.: Arch. of Dermat. **35**, 471 (1937). — [3] Giroud, A.: Erg. Vitamin-Hormonforsch. **1**, 68 (1938). — [4] Ortmann, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **191**, 12 (1938). — [5] Schott-Druckschrift 7222 „Jenaer Farb- und Filtergläser". — [6] Urban, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **202**, 337 (1943). — [7] Wels, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 116 (1948). — [8] Wels, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 265 (1938).

Dr. E. Roesch, Darmstadt, Martinstr. 12.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 401—414 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. med. L. Lendle).

Strophanthinwirkungen auf die Rattenniere bei histochemischer Darstellung der Funktion*.

Von
K. A. Trüpel.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Februar 1953.)

Einleitung.

Extrakardiale Digilitaliswirkungen auf die Niere werden keineswegs allgemein anerkannt. Mit großer Wahrscheinlichkeit erklärt sich die Entwässerung nach Digitalismedikation bei Herzinsuffizienz aus den besseren Durchblutungsbedingungen der Niere und der Gewebe mit fortlaufender Kreislaufverbesserung. Tierexperimentell sind jedoch mehrfach Befunde vorgelegt worden, nach denen verschiedene Digitalisstoffe in verschiedenem Ausmaße diuresefördernd wirken sollen.

In Heffter-Heubners Handbuch der experimentellen Pharmakologie gab Lendle eine Zusammenfassung über die Wirkungen der Digitalisstoffe auf alle Organfunktionen, so auch der Niere. Befunde im Sinne einer diuresefördernden Wirkung werden dort von Gremels am Hund, von Bonsmann an der Maus, von Kasztan an der Katze und von Pfaff, Siegmund u. Marschall am Kaninchen angegeben. Von diesen Autoren wird übereinstimmend auf Grund ihrer Tierexperimente angegeben, daß kleine Dosierungen von Digitalisstoffen die Diurese fördern, während große Dosen die Diurese hemmen. Dagegen konnten L. Beco, Hermann, Rothlin, Cushny u. Lamblie nur über unsichere oder negative Ergebnisse ihrer Tierversuche mit Digitalisstoffen berichten.

Auch in der neuen Monographie von E. u. J. Frey über Nierenfunktionen finden sich mehrere Angaben über solche Digitaliswirkungen. Zur Erklärung werden hier bestimmte vasomotorische Einflüsse angenommen, derart, daß kleine Dosen die Harnabsonderung durch Gefäßerweiterung fördern, während große toxische Gaben bei gleichzeitiger Durchblutungsdrosselung eine Hemmung der Diurese bis zur Anurie ausüben (Jonesku u. Loewi).

In einer neueren Arbeit von Lendle u. Oldenburg wurden zur Klärung der extrakardialen Nierenwirksamkeit von Digitalisstoffen Ratten benutzt, deren spezifische Herzunterempfindlichkeit gegenüber Digitalis bekannt ist; sie vertragen 50—100mal höhere Digitalisdosen als andere Warmblüterarten. Hier konnten also besonders hohe Dosen geprüft werden, ohne daß schon Herzwirkungen die Wirkungen beeinflussen mußten. Es zeigte sich, daß größere Dosen von k-Strophanthin subcutan mit Sicherheit eine Diuresehemmung bewirkten, während sich eine Diureseförderung mittels kleiner Dosen nicht hinreichend sicher nachweisen ließ. Die diuresehemmende Wirkung beginnt in dem Dosierungsbereich, der auch allgemein toxische Erscheinungen am Tier erkennen läßt.

* Herrn Professor Dr. E. Frey zum 75. Geburtstag gewidmet.

Einen weiteren Beitrag zur Nierenwirkung von k-Strophanthin bringt J. Frey durch Stoffwechseluntersuchungen mit Hilfe von Messungen mit der Warburgschen Apparatur. Er konnte im subtoxischen Dosierungsbereich gewisse Wirkungen abgrenzen.

Inzwischen hatten wir die Frage erhoben, ob man auch mittels der histochemischen Darstellung der Nierenfunktionen nach E. u. J. Frey typische Digitaliswirkungen auf die Niere unter den gleichen Bedingungen an Ratten zu zeigen vermag, bei denen also keine Herzschädigung das Bild zu stören braucht. Aus den Erfahrungen von E. u. J. Frey seien hier nur die wichtigsten Formen des funktionellen Verhaltens der Niere herangezogen, mit denen auch unsere Erfahrungen verglichen werden sollen.

a) *Bei der Wasserdiurese* ist allein die perorale Wasseraufnahme wirksam. Durch Hydrämie kommt es zu einer Senkung des Blutspiegels des antidiuretischen Hormones (Adiuretin). Diese Senkung der HHL-Wirkstoffe ist nach Marx der spezifische Reiz für einen bestimmten Mechanismus in der Niere (Diurese), der solange anhält, bis die Normalkonzentration des Adiuretin wieder hergestellt ist. Ein weiteres Kennzeichen der Wasserdiurese ist, daß der Harn auf der Höhe der Diurese einem spezifischen Gewicht von nahezu dem des destillierten H_2O zustrebt und dadurch immer blutunähnlicher wird. Im Tierexperiment wird die Wasserdiurese durch Narkose und HHL-Extrakte gehemmt, auch kann eine Wasserdiurese durch Gaben von Coffein in eine Glomerulusdiurese umgewandelt werden. Fee bezeichnet die Wasserdiurese als einen „Diabetes insipidus im Kleinen".

b) *Die Salz- oder Glomerulusdiurese* ist der Diuresetyp nach oraler und parenteraler Zufuhr von isotonischer Kochsalzlösung, hypertonischen Salzlösungen (Diureticis) und Coffeingaben. Die diuresesteigernde Wirkung der Salze richtet sich nach der Hofmeisterschen Reihe. E. Frey betrachtet das „Blutähnlicherwerden" des Harnes als wesentliches Kennzeichen dieser an sich unphysiologischen Harnbereitung. War der Harn vor der Diurese konzentrierter als das Blut, so wird er jetzt verdünnt, war er verdünnter als das Blut, so steigt seine Konzentration an. Im Gegensatz zur Wasserdiurese wird die Glomerulusdiurese weder durch Gaben von HHL-Extrakten noch durch Narkose beeinflußt.

c) *Die Antidiurese oder Konzentrierung* ist die weder durch orale Wasseraufnahme noch durch Diuretica veränderte Allgemeinfunktion der Niere im Sinne einer physiologischen Wassereinsparung und erfolgt durch die vegetativ-humorale Regulation der HHL-Wirkstoffe.

Bei diesen Betrachtungen der Diuresetypen spielt die *Vasomotorik der Niere* eine besondere Rolle. Nach E. Frey sind die Nierengefäße je nach der Tätigkeit der Niere verschieden durchblutet. Bei der Eindickung des provisorischen Harnes findet man die Glomeruli gut durchblutet, hingegen sind sie bei der Verdünnungsarbeit schlechter durchblutet. Im histologischen Bild fand E. Frey bei der Eindickung des Glomerulusfiltrates unterhalb der Rinde eine blasse, schlecht durchblutete Zone (Außenstreifen der Markaußenzone). Dieser Außenstreifen ist hingegen bei der Wasserdiurese sehr stark durchblutet. E. Frey folgert daraus, daß in dieser Zone zwischen Rinde und Mark eine Umschaltung des Blutstromes erfolgt, je nachdem ob die Niere Eindickungs- oder Verdünnungsarbeit leistet. Auch sprechen morphologische Unterschiede

zwischen den corticalen und juxtamedullären Glomerulis und den abführenden Capillarnetzen für eine Zweiteilung der intrarenalen Strombahn.

Nachdem E. Frey für die Darstellung der Nierenfunktionsbilder als erster die Tuscheinjektion in das Gefäßsystem anwandte, wurden diese Erfahrungen mit anderen histochemischen Verfahren erweitert, so von J. Frey mit Hilfe der Benzidinfärbung des Gefäßinhaltes nach Sjoestrand. Auch mit dieser Methode wurde die Vasomotorik innerhalb der Niere bestätigt, die auch von Trueta und Mitarbeitern beobachtet wurden. Weiterhin bestätigten Höpker und Höpker u. Meesen sowie in einer neueren Arbeit Kuhlgatz diese intrarenale Vasomotorik der Niere. Allerdings weichen Befunde und Auslegungen der letztgenannten Autoren von denen von E. u. J. Frey in wesentlichen Punkten ab, aber alle halten sie an der Zweiteilung der Nierenstrombahn fest.

Mit diesen Verfahren der histochemischen Funktionsdarstellungen der Niere haben wir die Digitaliswirkungen auf die Rattenniere geprüft unter besonderer Beobachtung der Dosierung und Berücksichtigung der Erfahrungen von Oldenburg.

I. Methodik.

Die Gefäßdarstellung erfolgte nach dem vielfach beschriebenen Verfahren von Sjoestrand, das wir dahingehend modifizierten, daß wir eine Schnittstärke von 25 μ benutzten und die Einbettungszeiten der Präparate entsprechend änderten. Alle Einzelheiten des Vorgehens (wie auch der Ergebnisse) sind in der Dissertation von Trüpel ausführlich erörtert.

Versuchstiere waren Ratten im Gewicht von 130—250 g. Ein Hungern oder Dursten der Tiere vor den Versuchen wurde nach den Erfahrungen von Oldenburg und Lendle nicht für erforderlich gehalten. Die Tiere erhielten einen peroralen Wasserstoß von 3,0 cm³/100 g Gewicht und gleichzeitig k-Strophanthin in Dosen von 0,02 mg — 6,0 mg/kg subcutan injiziert. Dabei wurden die Verdünnungen des k-Strophanthins so bemessen, daß immer die gleiche Flüssigkeitsmenge injiziert wurde. Ein Teil der Tiere wurde nach 75 min auf dem Höhepunkt der Diurese, ein anderer Teil nach 5 Std, d. h. nach Abklingen der Diurese, durch Nackenschlag getötet. Die Nieren wurden den Tieren sofort entnommen und in Formol fixiert. Unnötige Manipulationen am Gefäßstiel der Nieren während der Entnahme wurden möglichst vermieden, um reflektorische Einflüsse auf die Nierenvasomotorik zu vermeiden.

In den Kontrollversuchen erhielten die Tiere entweder nur Wasser, Coffein oder Tonephin. In weiteren Versuchen wurden die Kombinationswirkungen von Strophanthin mit Coffein oder Tonephin geprüft.

II. Übersicht über die Versuche.

Die toxischen Strophanthinwirkungen lagen im Bereich von 0,5 mg bis 6,0 mg/kg. Bei der Sektion wiesen diejenigen Ratten, die eine *toxische* Strophanthindosis mit gleichzeitigem Wasserstoß erhalten hatten, einen noch mit Wasser gefüllten Magen auf, während sie nach einer *therapeutischen* Dosis Strophanthin trotz Wasserstoß einen restlos geleerten Magen zeigten. Die Tiere der Kontrollversuche, die nur den Wasserstoß erhielten, hatten ebenfalls einen restlos entleerten Magen. Da die Tiere mit toxischer Strophanthinwirkung einen Hypertonus des Darmes zeigten,

dürfte die Entleerungshemmung durch einen Pylorosspasmus bedingt sein. Durch diese Beobachtung kann die von Lendle u. Oldenburg beschriebene „Verzögerung" der Diurese nach großen Strophanthindosen als ursächlich geklärt betrachtet werden.

Der Grad der Magenentleerungshemmung sowie die allgemeintoxischen Erscheinungen (wie Erregungszustände, Tachypnoe, Hyperakusis und Gangstörungen) sind proportional von der Dosis des k-Strophanthins abhängig. Bei unseren Beobachtungen zeigte sich, daß die Entleerungsstörungen des Magens eher abklingen als die allgemeintoxischen Erscheinungen der Tiere. Die Vergiftungserscheinungen der Tiere, die nur Strophanthin, aber keinen Wasserstoß erhalten hatten, waren ausgeprägter; auch scheint es so, daß das Vergiftungsbild nach Strophanthin durch gleichzeitige höhere Coffeingaben verstärkt wird.

III. Allgemeine Beurteilung der mikroskopischen Befunde.

Wir schlossen uns dabei an die Schemata der Gefäßversorgung der Niere an, wie sie von Gänsslen und Peter beschrieben worden sind.

I. *Rinde* mit corticalen und juxtamedullären Glomerulis; Vasa afferentia und efferentia; Vasa corticalia radiata (= Aa. interlobulares et. Vv. interlobulares).

II. *Außenzone des Marks.*

A) *Außenstreifen* mit Aa. interlobares und Vv. arciformes; Arteriolae rectae spuriae (= Arteriolae efferentes der juxtamedullären Glomeruli); Arteriolae rectae verae (Gänsslen).

B) *Innenstreifen.*

a) Außenschicht mit Vasa recta medul. oberer Teil (häufig in Gefäßbündel angeordnet).

b) Innenschicht mit Vasa recta medul. unterer Teil.

III. *Innenzone des Marks* (Gebiet der Papilla) mit Endästen der Vasa rectae medul.

Die von uns angewandte Methodik der Benzidinfärbung ermöglicht es, die in diesem Schema angegebenen Gefäßprovinzen der Niere im histologischen Bild nachzuweisen. Allerdings ist eine exakte Unterscheidung in einem arteriellen und venösen Schenkel der Durchblutung nicht immer mit genügender Sicherheit zu treffen, namentlich bei der Dichte der Durchblutung im Innenstreifen der Außenzone, wo sowohl die arteriellen wie auch die venösen Gefäße zu massiven Gefäßbündeln angeordnet sind. Es läßt sich aber mit einiger Sicherheit aussagen, daß mit dem geübten Verfahren der histochemischen Funktionsdarstellung sowohl der venöse als auch der arterielle Durchblutungsschenkel im wesentlichen erfaßt wird.

Bei der Auswertung der folgenden Tabellen bedienten wir uns dieser Abkürzungen: Gl = Glomerulus; RK = rundmaschiges Capillarnetz; LK = längsmaschiges Capillarnetz; mG = mittlere Gefäße (Vasa interlobulares-corticalia radiata; Vasa afferentia et efferentia); GB = Gefäßbündelung; AS = Außenstreifen der Außenzone; IS = Innenstreifen der Außenzone; IZ = Innenzone; + + + = pralle Durchblutung; + + = gute Durchblutung; + = mäßige Durchblutung; (+) = minimale Durchblutung; — = keine Durchblutung; (+ +) = gute Durchblutung in Form von Markstrahlbildung.

Es seien zunächst 3 Funktionsbilder der Wasserdiurese, der Glomerulusdiurese und der Diuresehemmung festgehalten.

Tabelle 1.

Funktion	Dosis/kg	Rinde				Mark			Bemerkungen
		Gl	RK	LK	mG	AS	IS	IZ	
Wasserdiurese	30,0 cm³	+	+	—	+	++	++	(+)	Innenstreifen mäßige G. B.
Glomerulus-diurese (Coff. natr.salic.)	30,0 cm³ 40—50 mg	++	+	++	++	+	+++	+	Innenstreifen auffallende G. B.
Diuresehemmung (Tonephin)	30,0 cm³ 0,06—0,09 E	+	+	+	—	(+)	++	+	Innenstreifen kurze G. B. Rinde ist breit.

Anmerkung: Tötung der Tiere nach 75 min.

Eine vergleichende Betrachtung der Funktionsbilder der Kontrollversuche zeigt, daß der Innenstreifen der Markaußenzone bei den einzelnen Funktionstypen immer gut durchblutet ist, während Rinde und Mark entsprechend den einzelnen Funktionszuständen eine wechselnde Durchblutung erkennen lassen. Sehr typisch ist dieser Durchblutungswechsel in dem Außenstreifen der Markaußenzone, in dem E. u. J. Frey die Umschaltzone für eine getrennte Vasomotorik der Niere vermuten. Dieser Außenstreifen ist bei der Wasserdiurese gut, bei der Glomerulusdiurese mäßig und bei der Diuresehemmung kaum durchblutet. In der Rinde lassen sich die einzelnen Funktionstypen an der wechselnden Durchblutung innerhalb des rund- und längsmaschigen Capillarnetzes erkennen. Die Durchblutung der Innenzone ist in allen Versuchen uncharakteristisch, so daß sie zur Auswertung nicht herangezogen werden kann.

Wir geben zur Veranschaulichung der in der Tabelle zusammengefaßten Kennzeichen ein Bild der Glomerulusdiurese (s. S. 407). Dieses Bild kann nämlich als Kontrolle für die später zu beschreibenden Strophanthinwirkungen dienen, welche auch in der Gruppe der Glomerulusdiurese einzuordnen sind.

IV. Strophanthinwirkungen.

a) Strophanthingaben mit Wasserstoß.

Entsprechend dem Versuchsplan liefen die Versuche in 2 Zeitphasen, in dem bei gleicher Dosis die Strophanthinwirkung auf den Wasserstoß zuerst nach Ablauf von 75 min und dann nach 5 Std beurteilt wurde.

75 min nach 0,02 mg/kg sieht man das Funktionsbild einer reinen Wasserdiurese und nach 5 Std das einer abklingenden Wasserdiurese.

Erst bei 0,05 mg/kg kann man eine Eigenwirkung des k-Strophanthins auf den Wasserstoß erkennen, derart, daß die Rinde im Bereich der corticalen Glomeruli sehr gut durchblutet ist und es zur Bildung von ausgeprägter Markstrahldurchblutung kommt. Es liegen somit nach E. u. J. Frey typische Kennzeichen für das Bild einer Glomerulusdiurese vor. Nach Ablauf von 5 Std sieht man wieder eine reine Wasserdiurese.

Tabelle 2. *Je Tier 30,0 cm³/kg Wasser per os, dazu k-Strophanthin Boehringer subcutan.*

Versuch	Dosis/kg	Rinde				Mark			Bemerkungen
		GL	RK	LK	mG	AS	IS	IZ	
R 20	0,02 mg	++	++	(+)	+++	++	++	+	Auffallend gute Durchblutung des AS u. der größeren Gefäße
R 21*	0,02 mg	++	+	++	+	(++)	+++	+	Markstrahlbildung, gutes Gefäßbündelung im Innenstreifen
R 8	0,05 mg	+++	++	++	++	(++)	+++	++	Markstrahlbildung in Rinde u. AS, gute GB im Innenstreifen
R 22*	0,05 mg	++	++	(+)	++	++	+++	(+)	Auffallend gute Durchblutung der Rinde u des AS. Im Innen streifen massive GB
R 13	0,5 mg	+	(+)	(+)	—	(++)	++	+	Bei geringer Durchblutung Markstrahlbildung in Rinde u. AS.
R 14*	0,5 mg	++	+	(+)	(+)	(+)	++	(+)	Rinde sehr breit, AS. minimal durchblutet, im Innenstreifen GB
R 11	3,0 mg	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)	Auffallende Durchblutungsdrosselung, im Innenstreifen keine GB
R 12*	3,0 mg	+	+	+	—	++	++	+	Markstrahlbildung im Innenstreifen, mäßige GB.
R 9	6,0 mg	+	(+)	(+)	—	(+)	+	(+)	Starke Durchblutungsdrosselung, im Innen streifen schwache GB
R 10*	6,0 mg	+	(+)	++	(+)	(++)	+	(+)	Geringe Durchblutungsdrosselung, im AS. schwache Markstrahlen im IS mäßige GB.

* Tier wurde erst nach 5 Std getötet, die übrigen Tiere wurden nach 75 min getötet.

Nach 0,5 mg/kg k-Strophanthin kommt eine schwache Glomerulusdiurese zustande, aber man erkennt schon an der gedrosselten Allgemeindurchblutung der Niere eine beginnende toxische Wirkung.

Die Tiere R 11, R 12, R 9 und R 10 erhielten ausgesprochen toxische Dosen (3,0—6,0 mg/kg k-Strophanthin) mit entsprechender Wirksamkeit.

Das erkennt man an der resultierenden Durchblutungsdrosselung und der damit bedingten Funktionshemmung der Niere. Die Stärke der Durchblutungsdrosselung und deren zeitliches Abklingen ist abhängig von der Dosis. Während nach Ablauf von 5 Std bei einer Dosis von 3,0 mg/kg die Strophanthinwirkung bereits restlos

abgeklungen ist und wieder eine Wasserdiurese vorherrscht, ist bei 6,0 mg/kg nach Ablauf von 5 Std die Durchblutungsdrosselung noch nicht restlos aufgehoben.

Entsprechende Versuche ohne Wasserstoß ergaben, daß für 0,5 mg kg k-Strophanthin eine geringgradige Glomerulusdiurese nach dem Gesamteindruck des histologischen Bildes zu erkennen ist.

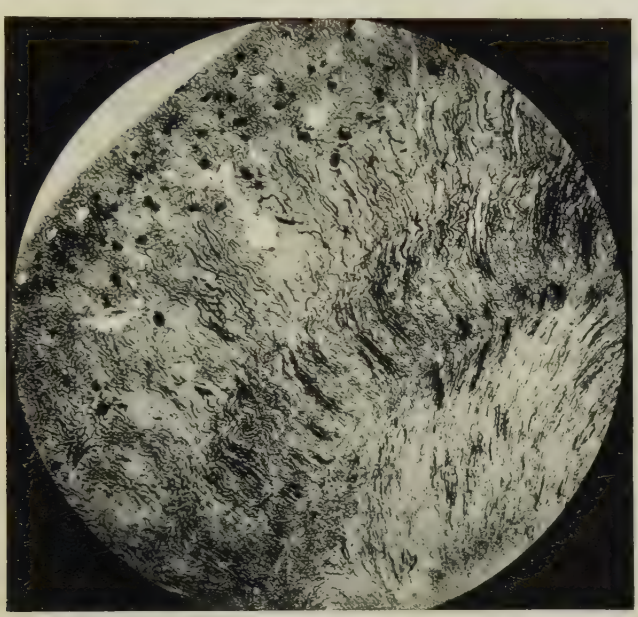


Abb. 1. *R 15* Glomerulusdiurese (Übersichtsvergr. 15:1) 40 mg/kg Coffein natr. salic. Auffallende Durchblutung der Rinde, der Außenstreifen ist weniger durchblutet, die Grenze zum Innenstreifen ist verhältnismäßig scharf. (Nach 75 min.)

b) Strophanthinwirkungen in Kombination mit Coffein oder Tonephin.

Tabelle 3. *Coffein natr. salic. subcutan k-Strophanthin Boehringer subcutan.*

Versuch	Dosis/kg	Rinde				Mark			Bemerkungen
		GL	RK	LK	mG	AS	IS	IZ	
R 5	100 mg Coff. 3,0 mg Stroph.	—	—	—	—	—	+	(+)	Schockbild
R 26	30,0 mg Coff. 0,05 mg Stroph.	(+)	(+)	—	+++	(+)	++	(+)	Rindenkollaps, starke Durchblutungsdrosselung
R 25	30,0 mg Coff. 0,5 mg Stroph.	(+)	—	—	—	—	+	(+)	Schockbild

Anmerkung: Tötung der Tiere nach 75 min.

Auffallend ist in allen Versuchen die starke Durchblutungsdrosselung im Bereich der gesamten Niere. In den Versuchen R 5 und R 25 herrscht ein ausgesprochener Schockzustand vor, und zwar sowohl bei toxischer

als auch in subtoxischer Dosis. Aber auch bei Dosen, die als therapeutisch anzusprechen sind (R 26), ist eine Durchblutungsdrosselung der Rinde festzustellen, nur der Innenstreifen ist gut durchblutet, so daß man von einem Rindenkollaps sprechen kann.

Tabelle 4. *Tonephin Bayer subcutan k-Strophanthin Boeringer subcutan.*

Versuch	Dosis/kg	Rinde				Mark			Bemerkungen
		GL	RK	LK	mG	AS	IS	IZ	
R 28	0,06 E Tonephin 0,05 mg Stroph.	—	—	—	—	(++)	+++	+	Ischämie der Rinde bei guter Durchblutung des Außenstreifens
R 27	0,06 E Tonephin 0,5 mg Stroph.	—	—	—	—	—	—	+	Schockbild

Anmerkung: Tötung der Tiere nach 75 min.

Die Tabelle zeigt bei der Kombination von k-Strophanthin mit Tonephin (HHL-Extrakt) ähnliche Befunde der Durchblutungs- und Funktionsstörung wie in der Kombinatin von Strophanthin mit Coffein.

V. Therapeutische und toxische Strophanthinwirkungen im histologischen Bild.

Wir geben im Anschluß an die tabellarischen Ergebnisse nur wenige Bilder zur Veranschaulichung. Ausführliche bildmäßige Darstellungen auch unter Verwendung des neuen Phasenkontrastverfahrens nach Zernike befinden sich in der Dissertation von Trüpel. Wir zeigen hier nur ein Beispiel für die Anwendung des Verfahresn bei gleichzeitiger Gefäßdarstellung mit Benzidinfärbung. weil sich diese Methode unter Vermeidung einer Gegenfärbung vielleicht auch für die Untersuchung anderer Organe eignen kann. Hinsichtlich der Aufnahmetechnik und der benutzten mikroskopischen Einrichtungen verweisen wir wieder auf die Dissertation von Trüpel.

Besonderen Dank möchten wir der Firma *Zeiss-Winkel*, Göttingen, Königsallee 17—21, sagen, für das großzügige Entgegenkommen bei der Benutzung ihrer optischen Einrichtung.

VI. Erörterung der Befunde.

1. Die diuresebeeinflussende Wirkung des k-Strophanthins.

Für die Beurteilung einer Wirkung auf die Diurese steht die Auswertung der makroskopischen und histologischen Versuchsergebnisse zur Verfügung. Eine vergleichende Betrachtung läßt mit Sicherheit aussagen, daß toxische Strophanthindosen die Durchblutung der Niere drosseln und eine Wasserdiurese hemmen. Die diuresehemmende Wirkung beginnt in dem Dosierungsbereich, in dem auch allgemeintoxische Erscheinungen am Tier zu erkennen sind und nimmt mit ansteigender Dosierung zu. Im histologischen Bild erkennt man einwandfrei, daß der Schwerpunkt der Durchblutungsdrosselung im Bereich von Rinde und Markaußenstreifen liegt.

Das histologische Bild bei toxischen Strophanthindosen zeigt eine gewisse Übereinstimmung mit der von Trueta u. Mitarbeitern sowie von Höpker u. Meesen

beschriebenen reflektorischen Rindenanämie nach Reizung des Nervus splanchnicus. Aus der starken Durchblutungsdrosselung kann man folgern, daß die funktionelle Tätigkeit der Niere weitgehend eingeschränkt bzw. aufgehoben ist.

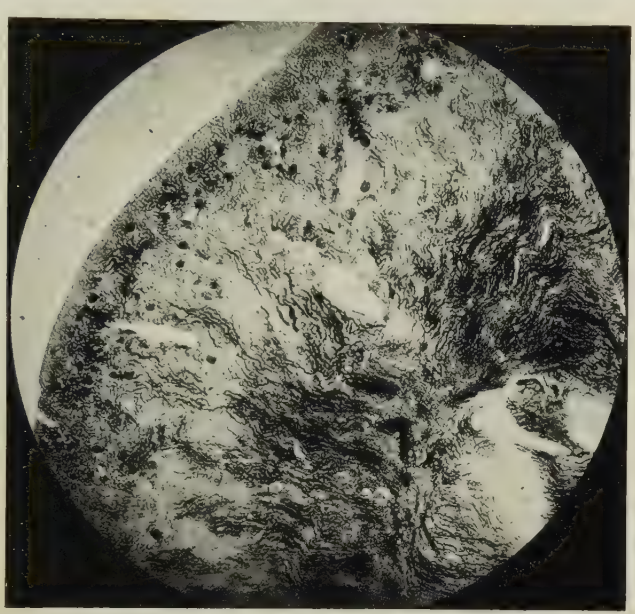


Abb. 2. *R 8* 0,05 mg/kg k-Strophanthin und H_2O (Übersicht 15:1) Funktionsbild nach 75 min. Der Reiz für eine Wasserdiurese wird durch den stärkeren Reiz für eine Glomerulusdiurese verdrängt. Markstrahlbildung in Rinde u. Außenstreifen.

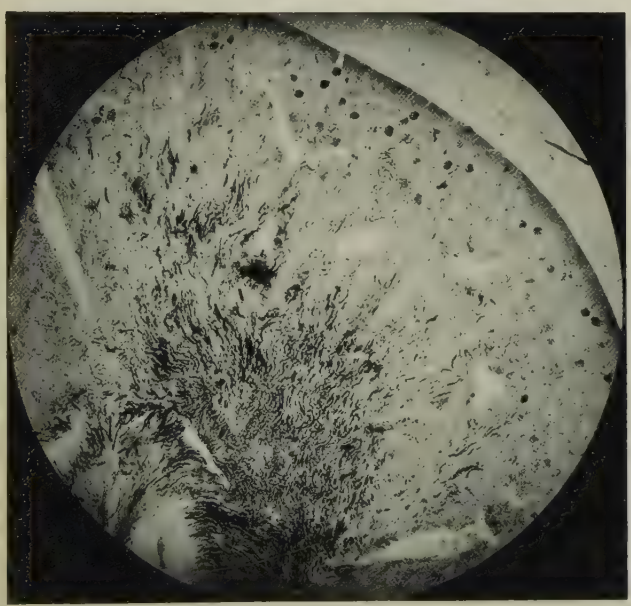


Abb. 3. *R 19* Rindenkollaps der Niere (Übersichtsvergr. 15:1) 3,0 mg/kg k-Strophanthin, 75 min. Auffallende Durchblutungsdrosselung in Rinde und Außenstreifen der Markaußenzone.

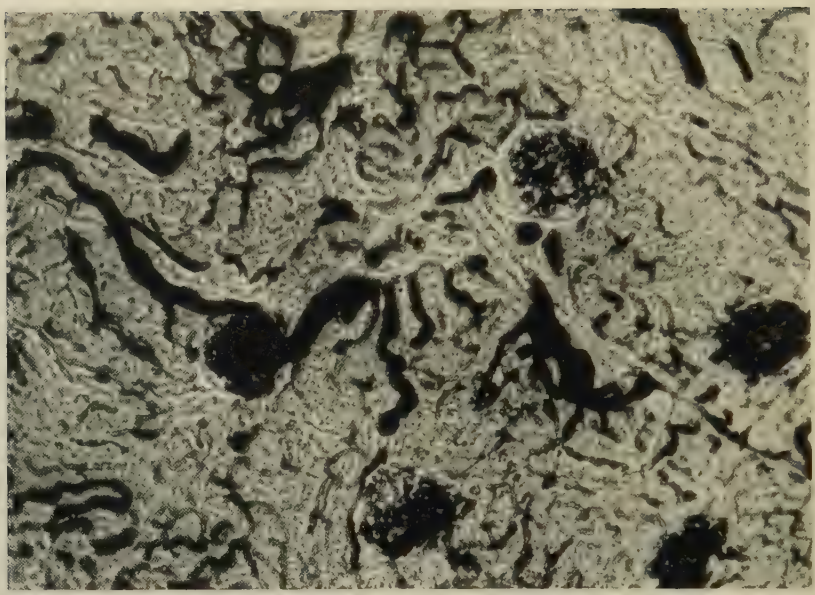


Abb. 4. *R 15* Glomerulusdiurese (Vergrößerung 90:1 Phasenkontrast). Die Glomeruli, längs- und rundmaschige Capillaren und Gefäße der Rinde sind gut durchblutet. In der Abbildung kommt der morphologische Aufbau eines juxtamedullären Nephrons gut zur Darstellung. Deutlich ist das kürzere Vas afferens und das längere Vas efferens zu erkennen. Das Gefäßlumen des Vas afferens ist breiter als das des Vas efferens. (Nach 75 min.)

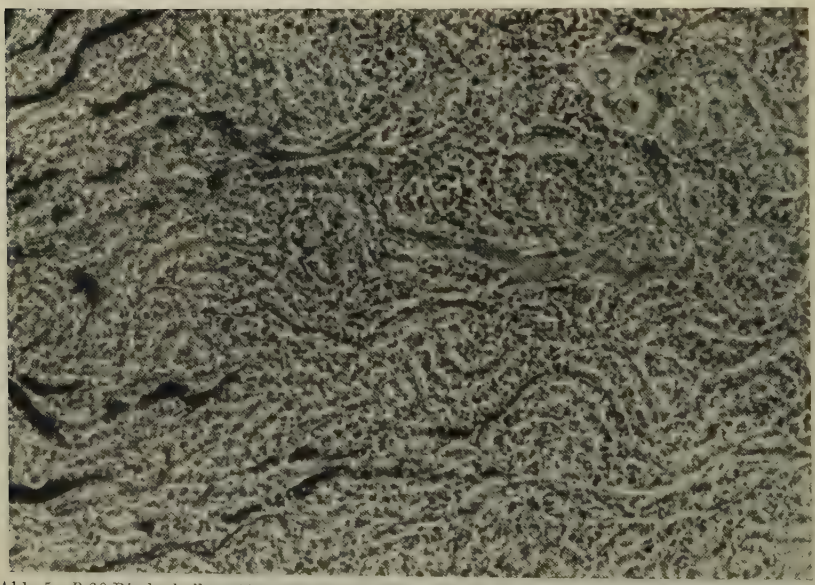


Abb. 5. *R 28* Rindenkollaps (Ausschnittvergrößerung 90:1, Phasenkontrast). Während der Außenstreifen der Markaußenzone durchblutet ist, ist in der Rinde keine Durchblutung mit der Benzidinfärbung nachzuweisen. 0,06 E Tonephin und 0,05 mg Stroph./kg. (Nach 75 min.)

Die Ursache der von Oldenburg beobachteten verzögerten Diuresewirkung nach hohen Strophanthindosen beim Wasserstoß wurde von uns bestätigt und konnte ursächlich geklärt werden. Sie entsteht dadurch, daß ein Pylorospasmus die Magenentleerung hemmt. Wenn mit abklingender Strophanthinwirkung der Pylorospasmus sich löst, kommt es zur Diurese. Dementsprechende Befund ezeigen die histologischen Bilder der Nierendurchblutung nach Ablauf von 5 Std.

Weit schwieriger als die Wirkung großer Strophanthindosen ist die Wirkung von kleinen, d. h. therapeutischen Dosen kritisch zu beurteilen. Es wurden Konzentrationen von 0,02 mg, 0,05 mg und 0,5 mg/kg auf ihre Nierenwirksamkeit im histologischen Bild geprüft. Der makroskopische Versuchsabschnitt bot keine Anhaltspunkte zur Beurteilung. 0,02 mg/kg sind bei der Ratte als unterschwellig in der Wirkung, und Dosen von 0,5 mg/kg sind bereits als gering toxisch zu bezeichnen. Dagegen kann man aus der Deutung der histologischen Befunde bei einer Dosierung von 0,05 mg/kg eine diuresefördernde Wirkung ablesen. Eine Wasserdiurese wird durch diese Dosis in eine Glomerulusdiurese umgewandelt, d. h. für eine funktionelle Tätigkeit der Niere ist der diuretische Reiz durch Strophanthin stärker als der diuretische Reiz durch die gleichzeitige Wasserbelastung.

E. u. J. Frey zeigen in ihrer Monographie (Abb. 21, S. 98) ein ähnliches Verhalten der Niere. Dort setzt sich der Reiz für eine Glomerulusdiurese (Coffein) gegenüber einem Reiz für eine Wasserdiurese (per os H_2O) durch. Strophanthin hat demnach in kleiner Dosierung den gleichen Einfluß auf die Vasomotorik der Niere wie Coffein. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß Coffein in großen Dosen eine gleiche Durchblutungsdrosselung der Niere verursacht wie Strophanthin.

Diese nierenspezifische Wirkung des Strophanthin wird in einer neuen Arbeit von J. Frey bestätigt. Er kann die nierenspezifische Nierenwirksamkeit von k-Strophanthin mittels Stoffwechseluntersuchungen nachweisen. Die Wirkungen sind gerade im subtoxischen Gebiet positiv erkennbar. Auch neuere klinische Erfahrungen amerikanischer Autoren (Eichna u. Farber) lassen am herzgesunden Patienten durch therapeutische Gaben von Digoxin (0,5— 1,5 mg i. v.) mäßige Eigenwirkungen erkennen, die sie mit Clearance, Messung des Elektrolytgehaltes des Harnes und der Urinmenge nachweisen. Sehr viel deutlicher sind diese Wirkungen aber am herzkranken Patienten, bei denen die Wasserausschwemmung vorwiegend über eine Verbesserung der Kreislaufbedingungen zu erklären sein dürfte.

2. Verhalten von Strophanthin zu anderen diuresebeeinflussenden Stoffen.

Gaben wir gleichzeitig zu einer Glomerulusdiurese nach Coffein Strophanthin, so erhielten wir den auffallenden Befund, daß schon kleine Dosen von Strophanthin (0,05 mg/kg) im Zusammenwirken mit sicherer diuresewirksamer Coffeindosierung (30,0 mg/kg) statt des zu erwartenden diuresesteigernden Effektes im histochemischen Funktionsbild eine Drosselung der Diurese und somit eine entgegengerichtete Wirkung erkennen lassen. Diese Durchblutungsdrosselung der Niere nimmt mit der Dosierungshöhe beider Pharmaka an Intensität zu.

Es muß allerdings bei der Auswertung an die Möglichkeit der Irritation der Funktionsbilder infolge reflektorischer Reizung der Vasomotorik (Trueta, Höpker

u. Meesen) bei der Entnahme der Organe gedacht werden. Gegen das Vorliegen von Irritationsbildern spricht aber die Abhängigkeit der Durchblutungsdrosselung von der jeweiligen Dosierungshöhe. Es scheint demnach so, daß durch Coffein die toxische Wirkung von Strophanthin verstärkt wird, wie das schon Kohn u. Costopanagiotti an dekapitierten Katzen beobachtet haben.

Eine ähnliche Wirkung wie bei der Kombination Coffein-Strophanthin beobachteten wir auch bei der Kombination Tonephin-Strophanthin. Auch hier ist eine Durchblutungsdrosselung die Folge, und zwar in Abhängigkeit von der Höhe der Dosierung. Höpker sah bei großen Dosen von Hypophysin eine ähnliche Wirkung. Deshalb erhebt sich die Frage, ob Strophanthin die HHL-Wirkung verstärkt oder ob HHL-Extrakte die Strophanthinwirkung verstärken?

3. Bieten unsere Befunde einen Beitrag zur Diskussion E. u. J. Frey mit Höpker u. Meesen?

Die Voraussetzung einer getrennten Vasomotorik der Niere, die zuerst von Trueta und Mitarbeitern experimentell nachgewiesen wurde, bietet sowohl für Frey als auch für Höpker u. Meesen die Grundlage für bestimmte Vorstellungen über den Vorgang der physiologischen Harnbereitung. Die Wesenszüge beider Funktionstheorien seien noch einmal kurz gegenübergestellt. E. u. J. Frey unterscheiden den Vorgang der Eindickung des provisorischen Harnes (Glomerulusdiurese) von dem Vorgang der Verdünnung des provisorischen Harnes (Wasserdiurese). Für beide Funktionsweisen der Niere können sie im histochemischen Bild typische Durchblutungsformen nachweisen, derart, daß der Außenstreifen der Markaußenzone eine wechselnde Durchblutung aufweist. Dieser Außenstreifen ist bei der Wasserdiurese gut und bei der Glomerulusdiurese mäßig durchblutet. Diese Nierenfunktionsbilder wurden von Popper u. Fuchs an Kaninchen und Meerschweinchen geprüft und bestätigt und gelten jetzt durch unsere Versuche auch für Ratten.

Im Gegensatz hierzu steht die Funktionstheorie von Höpker u. Meesen, die getrennte Funktionen der Harnbereitung für die corticalen und juxtamedullären Nephrone annehmen. Die corticalen Nephrone sollen verdünnen und die juxtamedullären ausschließlich konzentrieren. Allerdings kann Höpker nur für die verdünnende Tätigkeit der Niere, die er Polyurie nennt, typische Durchblutungsbilder nachweisen, mit dem Schwerpunkt der Funktion in den corticalen Glomerulis. Für die konzentrierende Niere streuen seine Befunde zu sehr.

Beide Autoren benutzen die Benzidinfärbung der Erythrocyten zur histologischen Funktionsdarstellung, weichen aber in der Anlage ihrer Versuche grundlegend voneinander ab, indem Höpker sie an narkotisierten Tieren anstellt, während Frey keine Narkose benutzt, da die Wasserdiurese durch Narkose gehemmt wird. Darüber hinaus prüft Höpker nur den Sammelbegriff der Polyurie unter dem er sowohl die Wasserdiurese als auch die Glomerulusdiurese versteht.

Nach unserer Auffassung gleichen die Freyschen Bilder einer Glomerulusdiurese in manchen Zügen den Bildern Höpkers, die er bei einer Polyurie gesehen hat. Während E. u. J. Frey einen Schwerpunkt der Durchblutung in sämtlichen Glomeruli nachweisen, beschränkt sich Höpker auf die corticalen Glomeruli. Nach den morphologischen Kenntnissen der Nierengefäßversorgung nach Gänsslen und Peter ist auch aus den Freyschen Bildern der Glomerulusdiurese eine vorwiegende Funktion der corticalen Glomeruli zu erkennen. Wären die juxtamedullären Glomeruli gleich stark in Tätigkeit, dann müßte auch der Außenstreifen der Markaußenzone gut durchblutet sein, da sich in dieser Region die abführenden Gefäße der juxtamedullären Glomeruli befinden. Auch spricht die Ausbildung von Markstrahlen

die Frey und auch wir in der Rinde bei der Glomerulusdiurese sehen, für eine überwiegende Funktion der corticalen Glomeruli. Nach Gänsslen erfolgt der Abfluß der abführenden Gefäße der corticalen Glomeruli über das rund- und langmaschige Capillarnetz in den Markstrahlen der Rinde.

Vielleicht lassen sich die Theorien Freys und Höpkers auf Grund der morphologischen Unterscheidungsmerkmale der Nephrone derart zusammenfassen, daß bei der Glomerulusdiurese der Schwerpunkt der Funktion in den corticalen Nierenkörperchen und bei der Wasserdiurese in den juxtamedullären sich befindet. Durch eine solche zusammengefaßte Hypothese würden auch die Befunde von Trueta berücksichtigt, der durch Nervenreizung die Funktion der corticalen Glomeruli ausschalten konnte und eine ausschließliche Tätigkeit der juxtamedullären Glomeruli nachweisen konnte.

Will man sich dieser Hypothese nicht anschließen, so kann man als Ursache für die starke Durchblutung des Außenstreifens der Markaußenzone, die das Hauptkriterium für die Freysche Wasserdiurese bildet, nur einen Kurzschluß innerhalb der renalen Strombahn annehmen. Dieser Kurzschluß müßte in Form eines paraglomerulären Nebenweges über die Arteriolae rectae verae erfolgen. Durch diesen beschriebenen Nebenweg könnte man die starke Durchblutung des Außenstreifens erklären, wenn man eine gleichzeitige Funktion der juxtamedullären Nephrone ausschließen will. Allerdings betragen diese Arteriolae rectae verae nach den Angaben von Gänsslen nur 6—10% der Arteriolae rectae spuriae, die die Hauptelemente dieser Nierengefäßprovinz darstellen. Die Möglichkeit eines solchen paraglomerulären Blutweges würde die Freysche Theorie wesentlich stützen.

4. Erörterungen des extrakardialen Angriffspunktes hoher k-Strophanthindosen.

Eine vergleichende Betrachtung der extrakardialen k-Strophanthinwirkungen auf Niere, Magen-Darmkanal und Zentralnervensystem der Ratte zeigt, daß die Niere auf eine Dosis von 0,05 mg/kg mit einer Veränderung ihrer Funktion antwortet. Dagegen treten im Bereich des Magen-Darmkanals erst im Dosierungsbereich von 0,5 mg/kg Wirkungen auf in Form von Pylorospasmen, Darmhypertonie und Durchblutungsdrosselung des Splanchnikusgebietes. Das Zentralnervensystem reagiert erst bei 1,0 mg/kg mit Erregungszuständen, Tachypnoe, Hyperakusis und Hyperästhesie. Die von uns beobachteten Gangstörungen der Tiere ab 1,0 mg/kg könnten auch ohne echte zentralnervöse Eigenwirkung die Folge von Durchblutungsstörungen innerhalb des Zentralnervensystems sein.

Diese Gegenüberstellung der k-Strophanthinwirkung auf die einzelnen Rattenorgane zeigt, daß sowohl Niere, Magen-Darmkanal als auch Zentralnervensystem auf Dosen ansprechen, die nachweislich auf das Rattenherz keine Wirkung haben. Oldenburg u. Lendle haben durch EKG-Untersuchungen nachgewiesen, daß erst Dosen von 5,0 mg/kg herzwirksam sind. Das Rattenherz spricht also auf Grund seiner spezifischen Unterempfindlichkeit erst auf die 100fach höhere Dosis an als die Rattenniere. Eine Dosis von 0,05 mg/kg subcutan gegeben stellt aber auch bereits eine äußerst hohe therapeutische Gabe dar und liegt nahe an der Grenze der Toxizität. Bei der Katze wirken bereits 0,1 mg/kg k-Strophanthin, intravenös gegeben, tödlich.

Zusammenfassung.

Die extrakardiale Wirkung des k-Strophanthins auf die Rattenniere wurde in 29 Tierversuchen geprüft unter Verwendung der histochemischen Darstellung der Nierenfunktionen. Im Vordergrund der Untersuchungen stand die Frage der diuresefördernden Wirkung des k-Strophanthins und die des nierenspezifischen Angriffspunktes dieses Pharmakons.

Für kleine Strophanthindosen (0,05 mg/kg) konnte eine diuresefördernde Wirkung im Sinne einer Glomerulusdiurese nachgewiesen werden.

Die therapeutische nierenwirksame Dosis beträgt den 100. Teil der herztoxischen Dosis, liegt jedoch bereits dicht an der Grenze der Toxizität bei anderen Tierarten.

Dosen von 1,0 mg/kg und höher verursachen eine Diuresehemmung. Die diuresehemmende Wirkung des Stoffes kann aus der Durchblutungsdrosselung, die im histochemischen Bild erkenntlich ist, geschlossen werden.

Als Ursache für die verzögerte Diuresewirkung bei der Wasserdiurese konnte im Sektionsbefund ein durch Strophanthin ausgelöster Pylorospasmus und eine dadurch bedingte Verzögerung der Magenentleerung nachgewiesen werden. Dieser Pylorospasmus löst sich nach Abklingen der Strophanthinwirkung und erklärt somit die verzögert auftretende Diurese.

Die extrakardialen Wirkungen auf Niere, Magen-Darm-Kanal und Zentralnervensystem treten bereits in einem Dosierungsbereich auf, in dem Herzwirkungen an der digitalisunterempfindlichen Ratte mit Sicherheit ausgeschlossen werden können. So ermöglicht gerade die spezifische Unterempfindlichkeit des Rattenherzens gegenüber Digitalisstoffen den Nachweis einer nur geringen extrakardialen Digitaliswirkung.

Durch das angewandte Verfahren der histochemischen Funktionsdarstellung der Niere konnten die Freyschen Durchblutungsbilder der jeweiligen Nierenfunktion (Wasserdiurese, Glomerusdiurese und Diuresehemmung) bestätigt werden.

Literatur.

Eichna u. Farber: J. Clin. Invest. **30**, 1250 (1951). Fee: zit. nach Marx in Becher: Nierenkrankheiten I, S. 551. Jena: Fischer 1944. — Frey, E. u. J.: „Die Funktionen der gesunden und kranken Niere". Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950. — Frey, J.: Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 473 (1952). — Gänsslen: Erg. inn. Med. **47**, 225 (1934). — Höpker: Ärztl. Forschg, Wörishofen **3**, 321 (1949). — Höpker u. Meesen: Ärztl. Forschg, Wörishofen **4**, 1 (1950). — Kohn u. Costopanagiotis: Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 151 (1933). — Kuhlgatz: Pflügers Arch. **256**, 1 (1952). — Lendle: Handbuch der exp. Pharmak. Erg. Bd. I, S. 208 ff. — Lendle u. Oldenburg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 243 (1950). — Marx: Klin. Wschr. **1930** II, 2384. — Oldenburg: Inaug. Diss. Göttingen 1950. — Peter: „Untersuchungen über den Bau und Entwicklung der Niere". Jena: Fischer 1909. — Popper u. Fuchs: Erg. inn. Med. **54**, 1 (1938). — Sjoestrand: Skand. Arch. Physiol. **68**, 160 (1934). — Trueta, Barclay, Daniel, Franklin u. Prichard: „Studies of the renal. Circulation". Oxford 1947. — Trüpel: Inaug. Diss. Göttingen 1952. — Zernike: Physika **1**, 689 (1934); Z. techn. Physik. **16**, 454 (1935); **36**, 848 (1935).

Dr. K. A. Trüpel, Pharmakol. Institut d. Univ. Göttingen, Geiststr. 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 415—426 (1953).

Aus dem Institut für Experimentelle Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Professor Dr. F. Palme).

Blutdruckreflexe bei Blockade der efferenten Reflexbahn.

Von

H. Marx und G. Barner-Brückner.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Dezember 1952.)

Im Rahmen eines größeren Planes zur qualitativen und quantitativen Prüfung des pressorezeptorischen Reflexbogens durch Angriff an verschiedenen Stellen (Palme[16], Palme u. Häusler[17], Palme u. Vogel[18], Kalkoff[9]) soll diese Untersuchung dazu dienen, die Wirkungen einer Unterbrechung in den efferenten Anteilen näher darzustellen. Wir bedienten uns dazu einer Gruppe von Stoffen, die geeignet sind, spezifisch die Übertragung von nervösen Reizen in vegetativen Ganglien zu hemmen, den sogenannten Ganglienblockern. Weiter zogen wir Medikamente heran, die als Sympathicolytika ihren Hauptangriffspunkt in der Hemmung sympathischer Impulse haben. Die Testung der pressorezeptorischen Reflexe mittels stufenweiser Druckerhöhung in einem Sinuspräparat (Eb. Koch[10], Palme[16]) sollte zur Analyse der unmittelbaren und mittelbaren Wirkungen der genannten Stoffe und zur Frage beitragen, wieweit sich überhaupt eine Differenzierung erreichen läßt.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden insgesamt an 34 Hunden, 2 Kaninchen und 2 Katzen ausgeführt. Als Grundnarkose verwendeten wir bei Hunden und Kaninchen 10 mg/kg Morphin und 250 mg/kg Urethan i. m. bzw. 80 mg/kg Chloralose i. v.; bei Katzen nur Urethan oder Chloralose. Bei Bedarf wurde $^1/_4$ oder $^1/_8$ Dosis nachinjiziert. Der Blutdruck wurde mit einem Hg-Manometer aus der A. femoralis registriert. Die Medikamente wurden durch eine Injektionskanüle in die V. femoralis der anderen Seite injiziert bzw. infundiert. Die Tiere atmeten spontan durch eine Trachealkanüle.

Die A. carotis rechts wurde entsprechend dem Vorgehen von Eb. Koch in einen Blindsack umgewandelt, in dem der Druck stufenweise erhöht werden konnte (25 Hunde und 1 Kaninchen). Die linke A. carotis wurde zur Abklemmung frei präpariert. In 4 Fällen bestand ein doppelseitiges Sinuspräparat.

Wir bezeichnen den mittleren Blutdruck, der nach Ausschaltung von 3 pressoreceptorischen Nerven nur noch über einen Sinusnerven gesteuert wird, als den regulierten Blutdruck. Weiter nennen wir den Blutdruck nach Ausschaltung aller 4 Pressoreceptoren den maximalen, denjenigen nach maximaler Reizung eines Sinusnerven durch Druckerhöhung

im Sinusblindsack den minimalen Blutdruck; die Differenz zwischen beiden Werten ist die Reflexbreite. Die erhaltenen Änderungen des Blutdruckes nach Ausschaltung der pressoreceptorischen Nerven und stufenweiser Druckerhöhung in dem Sinuspräparat wurden in Diagrammen als Absolutwerte und als Prozentwerte des Gesamtsenkungserfolges bei maximaler Reizung (in anderen Worten: der Reflexbreite) eingetragen (Absolutcharakteristik bzw. Prozentcharakteristik des Blutdruckes in Anlehnung an Eb. Koch[10]). Hinsichtlich der näheren Einzelheiten der Methodik kann auf die Arbeiten von Palme[16] und Palme u. Häusler[17] verwiesen werden.

Ergebnisse.

A. Ganglienblocker.

Wir versuchten zunächst eine Unterbrechung der efferenten Seite des Reflexbogens durch die Anwendung von sogenannten Ganglienblockern zu erreichen. Dazu verwendeten wir das Tetraäthylammoniumbromid (= TAB) (11 Hunde, 1 Katze) und das N,N,N′N′,3-Pentamethyl-N,N′,-diäthyl-3 azapentylen-(1,3)-diammoniumbromat (= Pendiomid) (13 Hunde, 2 Kaninchen); Vergleiche mit beiden Stoffen wurden an 3 Hunden und 1 Katze ausgeführt.

In Vorversuchen (2 Hunde, 2 Kaninchen) überzeugten wir uns davon, daß durch örtliches Auftupfen von Pendiomid in einer Konzentration von 1:1000 auf den Sinus caroticus keine Wirkung auf die pressoreceptorischen Endigungen selber festzustellen war.

Bei intravenöser Anwendung genügend hoher Dosen, die sich am Präparat des Ganglion cerv. cran. als wirksam gezeigt hatten (Pendiomid (1)-3-5 mg/kg Bein u. Meier[3], TAB 2—100 mg/kg Acheson u. Pereira[2]), gelang es, auch auf den Blutdruck Wirkungen zu erzielen, die durch eine weitgehende Blockade der vasoconstrictorischen Impulse erklärt werden können. Grundlegende Unterschiede zwischen beiden Stoffen wurden nicht gefunden.

Ein Beispiel für eine volle Blockade gibt die Abb. 1. Der regulierte Blutdruck betrug bei diesem Tier etwa 120 mm Hg; der maximale Blutdruck bei völliger Enthemmung des Vasomotorenzentrums stieg bis auf etwa 200 mm Hg, während der minimale bei stärkster Hemmung bis auf etwa 85 mm fiel. Eine Injektion von 3 mg/kg Pendiomid senkte den regulierten Blutdruck auf 65 mm Hg, einen Wert, der noch unter dem Minimaldruck der Vorperiode lag. Die Reflexerfolge nach Abklemmung der intakten A. carotis der einen und nach Druckerhöhung in dem Sinusblindsack der anderen Seite verschwanden völlig. Im Laufe von 175 min kehrten die Werte etwa wieder auf den Ausgang zurück.

Außer diesen Befunden bei relativ hoher Dosierung, die durch eine mehr oder weniger weitgehende Blockade der efferenten Reflexbahn erklärt werden können, fanden wir bei den Dosen von Ganglienblockern,

wie sie in der Therapie Verwendung finden, Effekte, die die Annahme einer zweiten Wirkungsmöglichkeit erfordern. Bei Verwendung von 0,3—1,0 mg/kg Pendiomid bzw. 5—10 mg/kg TAB intravenös ergab die Prüfung der Reflexbreite eine deutliche Erhöhung des Minimaldruckes, d. h. der von der nervösen Regulation unabhängige Eigentonus der

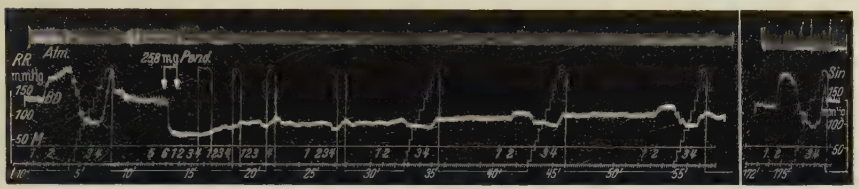


Abb. 1. *Ganglienblockade durch hohe Dosis Pendiomid.* Hund, ♂, 8,6 kg. Morphium-Urethan-Narkose. Sinuspräparat rechts, Vagi durchschnitten. Bedeutung der Kurven von oben: Atmung (*Atm*), Blutdruck (*BD*), Signallinie (*M*), Zeitlinie (t = 10 sec), Druck im Sinuspräparat. Bedeutung der Zahlen der Signallinie: *1* Abklemmung der A. carotis links, *2* Beginn der stufenweisen Druckerhöhung im Sinuspräparat rechts, *3* Ende der endosinualen Druckerhöhung, *4* Entfernung der Klemme an der A. carotis links. Bei den Pfeilen 3 mg/kg Pendiomid i. v. injiziert.

Arteriolen war offensichtlich erhöht (Abb. 2). Dieser Befund ließ sich in 7 von 8 Versuchen reproduzieren. Dabei bestand kein Unterschied, ob eine Vagotomie vorgenommen war oder nicht. Die Erhöhung des Minimaldruckes trat meist erst mit einer Latenz von etwa 10 min ein.

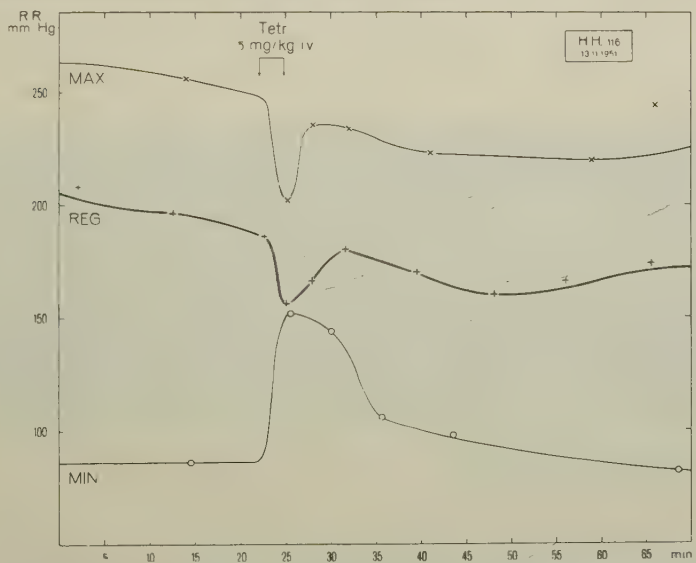


Abb. 2. *Blockerwirkung bei geringerer Dosierung.* Hund, ♂, 7,0 kg. Morphium-Chloralose-Narkose. Sinuspräparat rechts. Aortennerven durchschnitten, Vagi erhalten. Obere Kurve: Maximaldruck (*MAX*) bei Ausschaltung aller Pressoreceptoren durch Abklemmung der A. carotis links. Mittlere Kurve: Regulierter Blutdruck (*REG*), pressorezeptorische Steuerung über den Sinus caroticus links. Untere Kurve: Minimaler Blutdruck (*MIN*), durch maximale Druckerhöhung im Sinuspräparat rechts. Bei der Markierung intravenöse Injektion von 5 mg/kg TAB. Während die Senkung des regulierten und des maximalen Blutdruckes nach 5—10 min zum größten Teil abgeklungen ist, hält die Erhöhung des Minimaldruckes mindestens 20—25 min lang an.

Ein weiteres Zeichen für eine Unterbrechung der efferenten vasomotorischen Bahnen durch Anwendung hoher Dosen von Ganglienblockern fanden wir in der Hemmung bzw. völligen Verhinderung des Blutdruckanstieges in der ersten Phase der Erstickung durch Verschluß der Trachealkanüle. In der Tab. 1 werden an einem Versuchsbeispiel die Blutdruckwerte bei Abklemmung der Aa. carotis und in der Erstickung vor und nach Injektion von 3 mg/kg Pendiomid miteinander verglichen.

Tabelle 1.

	Zeit der Prüfversuche	Blutdruck		
		Reguliert	Nach Abklemmung der Aa. carot. comm.	Maximum in der Erstickung
1.	4 Std 16—24 min	138	216	270
2.	4 Std 46—54 min	150	186	216
	5 Std 27—28 min	3 mg/kg Pendiomid i. v.		
3.	5 Std 30—34 min	52	64	64
4.	5 Std 38—46 min	80	106	90
5.	6 Std 37—42 min	84	103	140

Bemerkenswert ist, daß sich keine ganz regelmäßigen Beziehungen zwischen Dosis und blockierender Wirkung feststellen ließen. So gelang es bei einem Hund selbst mit Dosen von 7, 14 und 30 mg/kg Pendiomid und 30 und 90 mg/kg TAB nicht, die Reflextätigkeit voll zu unterdrücken.

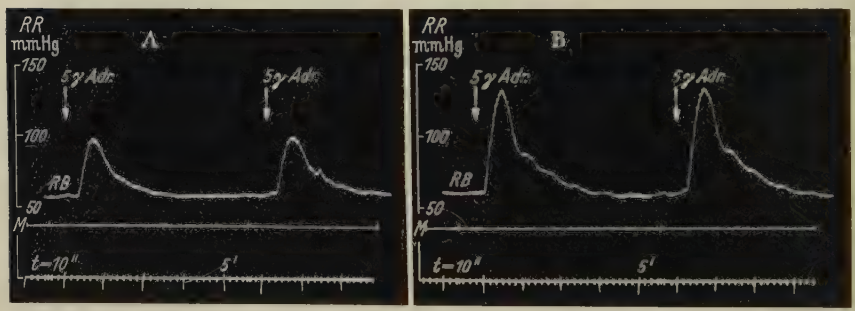


Abb. 3. *Steigerung der Adrenalinwirkung durch Ganglienblocker.* Katze, ♂, 3,6 kg. Äther-Chloralose-Narkose. Halsmark durchtrennt. Obere Kurve: Blutdruck, darunter Signal- und Zeitlinie. Zwischen Kurve *A* und *B* wurde 1 mg/kg Pendiomid i. v. gegeben. Blutdruckanstieg auf 5 γ Adrenalin vorher 35—40 mm Hg, nachher 70 mm Hg.

Ein Aderlaß ist gleichfalls geeignet, den Maximaldruck und damit die Reflexbreite zu verringern, wie das durch Befunde von Eb. Koch[11] und eigene Versuche gezeigt wurde. Diese Einschränkung der Reflexbreite gleicht übrigens kurvenmäßig der in Abb. 1 gezeigten weitgehend; sie ist hauptsächlich wohl durch Verminderung der zirkulierenden Blutmenge und damit des Minutenvolumens zu erklären. Um einen solchen

Vorgang bei den Veränderungen der Blutdruckreflexe durch die Blocker auszuschließen, wurden Bluttransfusionen (100—200 cm³ Konservenblut, 3 Tiere) auf der Höhe des Effektes ausgeführt. Dabei gelang es, den regulierten Blutdruck zu heben; die Reflexbreite blieb aber so klein wie sie gewesen war. Ein Beispiel für diese Versuche wird bei den Sympathicolytika gegeben.

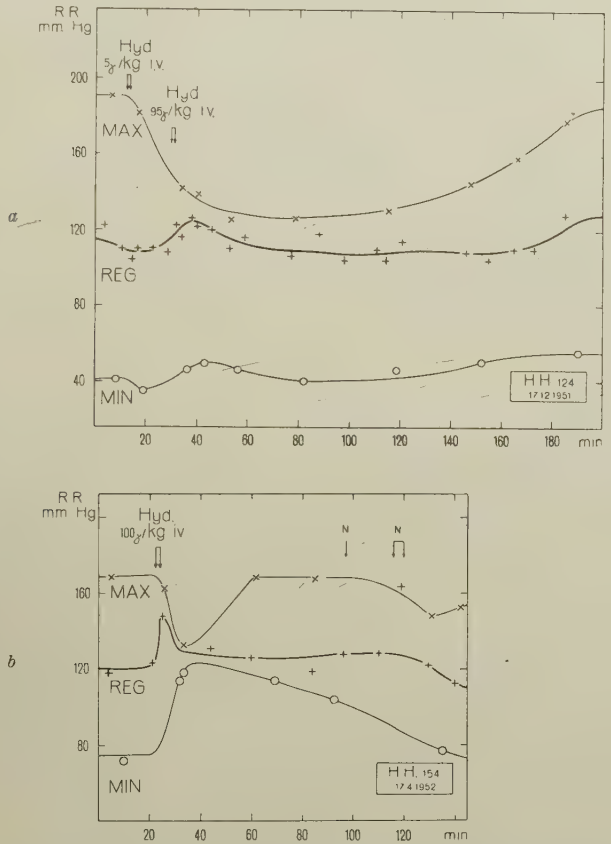


Abb. 4. *Verhalten der Blutdruckreflexe nach Hydergin bei erhaltenem und bei durchschnittenem Vagus.* Obere Kurven: Maximaldruck (*MAX*) bei Ausschaltung aller Pressoreceptoren durch Abklemmung der A. carotis links. Mittlere Kurven: Regulierter mittlerer Blutdruck (*REG*), pressoreceptorische Regulation über den Sinus caroticus links. Untere Kurven: Minimaler Blutdruck (*MIN*), durch maximale Druckerhöhung im Sinuspräparat rechts.

a Hund, ♀, 9,5 kg. Morphium-Urethan-Narkose. Sinuspräparat rechts, Aortennerven durchschnitten, Vagi erhalten. Durch 100 γ/kg Hydergin wird der Maximaldruck über 3 Std stark gesenkt, während der regulierte und der minimale Blutdruck etwa gleich bleiben, von einer anfänglichen geringen und kurzdauernden Erhöhung abgesehen.

b Hund, ♂, 8,6 kg. Morphium-Chloralose-Narkose. Sinuspräparat rechts, Vagi durchschnitten. Nach Injektion von 100 γ/kg Hydergin ebenfalls starker Abfall des Maximaldruckes, neben einer kurzdauernden Steigerung des regulierten Blutdruckes fällt aber vor allem die lang anhaltende Erhöhung des Minimaldruckes auf.

Die genaue Analyse der Blutdruckcharakteristiken (auch hierfür werden Beispiele später noch gezeigt) ergab keine sicheren Veränderungen. Von 13 verwertbaren Versuchen war die Schwelle, d. h. die Höhe des Druckes im Blindsack, bei der der Blutdruck im Organismus eben absank, in 5 Fällen in mäßigem Grade um etwa 20—40 mm Hg erhöht, in den anderen 8 Fällen unverändert.

In Bestätigung der Versuchsresultate von Page u. Taylor[15] fanden auch wir eine Verstärkung der Wirkungen von Adrenalin durch Ganglienblocker (6 Hunde, 2 Katzen). Dies ließ sich auch am Spinaltier nachweisen (Abb. 3).

B. Sympathicolytika.

Um einen Vergleich mit den Ganglienblockern zu gewinnen, führten wir noch Versuche an 10 Hunden mit Stoffen durch, die weiter peripher angreifen und als Sympathicolytika bekannt sind. Dazu verwendeten wir Hydergin (5 Tiere), Opilon (Azetoxythymoxyäthyldimethylaminchlorhydrat) (3 Tiere), Dihydroergotamin und Piperidinomethylbenzodioxan (je 1 Tier).

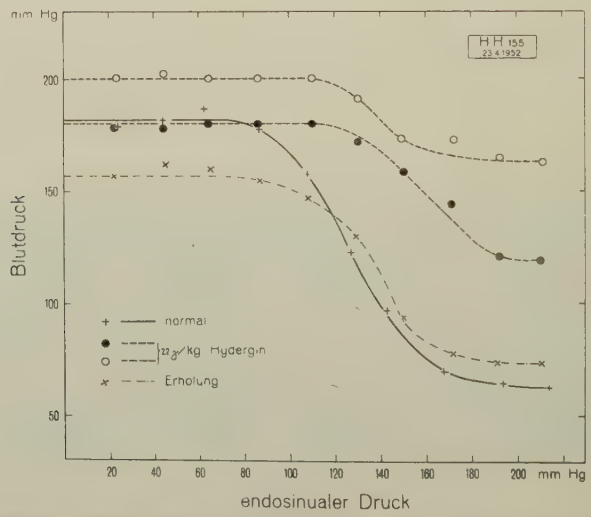


Abb. 5. *Verhalten der Blutdruckcharakteristik nach Anwendung von Hydergin.* Absolutcharakteristik, Beschreibung der Kurven im Text.

Diese Versuche ergaben ein Bild, das in vielen Punkten den Ganglienblockern ähnlich war. Der regulierte Blutdruck wurde gesenkt, die Reflexbreite verkleinert. Hierbei zeigten sich charakteristische Unterschiede, die von anderweitigen Wirkungsmechanismen, insbesondere der Sekaleabkömmlinge, abhängen. Diese Stoffe besitzen immer noch, wenn auch in abgeschwächtem Maße, eine direkte Gefäßwirksamkeit im Sinne

einer Tonuserhöhung. Ganz besonders gilt dies vom Dihydroergotamin. Während sich bei Opilon und Piperidinomethylbenzodioxan die reinen Folgen einer Hemmung der Vasoconstriction mit niedrigem Minimaldruck zeigten, war bei den dihydrierten Secalealkaloiden ein Anstieg des Minimaldruckes in allen Fällen festzustellen, sofern eine Vagotomie vorgenommen war. Bei erhaltenem Vagus dagegen blieb der Minimaldruck niedrig bei gering verstärkter Bradykardie (Abb. 4*a* u. *b*).

Alle Stoffe dieser Gruppe führten gemeinsam zu einer Erhöhung der Schwelle der reflektorischen Blutdrucksenkung bei Zunahme des endosinualen Druckes im Sinuspräparat; sie betrug 20 40 mm Hg endosinualen Druck. Die Kurven der Abb. 5 zeigen das Verhalten des Blutdruckes in Abhängigkeit vom endosinualen Druck. Durch Ausschaltung aller Pressoreceptoren ist der Druck auf seinen maximalen Wert, in diesem Falle auf 180 mm Hg, gestiegen. Durch stufenweise Druckerhöhung in einem Sinusblindsack fällt der Druck ab und erreicht bei einem endosinualen Druck von etwa 200 mm Hg sein Minimum. Der Verlauf dieser Charakteristik zeigt nach Anwendung von Hydergin, daß der Blutdruck erst bei einem höheren endosinualen Druck anfängt abzusinken, d. h. die Schwelle ist erhöht. Den gleichen Vorgang erkennt man auch in der Prozentcharakteristik, in der die Differenz zwischen Maximal- und Minimaldruck gleich 100% gesetzt wurde und die Blutdrucksenkung in jeder Stufe des endosinualen Druckes als Prozentsatz der Gesamtdifferenz eingetragen wurde. Nach Hydergin ist die gesamte Kurve nach rechts verschoben, d. h. wiederum, wir brauchen einen größeren adäquaten Reiz, um einen gleichen Erfolg zu erzielen. Anschließend gehen die Werte wieder auf den Ausgang zurück.

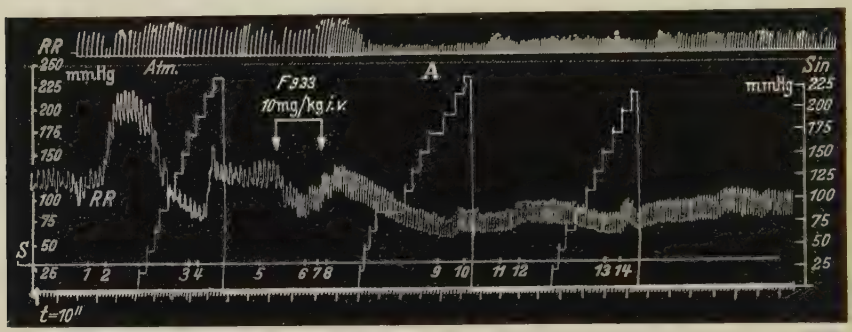
Wie bei den Ganglienblockern wurde auch nach Einwirkung von Sympathicolytika versucht (3 Tiere), eine Verminderung der zirkulierenden Blutmenge als Hauptursache der Drucksenkung durch Bluttransfusion auszuschließen. Die Abb. 6*a* und *b* zeigen einen Befund, der nach intravenöser Injektion von je 10 mg/kg Piperidinomethylbenzodioxan erhoben wurde. Beim zweiten Male wurde unmittelbar anschließend an die Injektion 110 cm^3 mit Citrat versetztes Hundeblut infundiert. Während vorher der Minimaldruck ungefähr gleich blieb, der regulierte um 40 mm Hg und der maximale Druck um etwa 120 mm Hg gesenkt wurde, stieg nach der Infusion der Minimaldruck um 70 mm Hg an, wobei die Differenz zwischen maximalem und minimalem nur etwa 20 mm Hg betrug.

Diskussion.

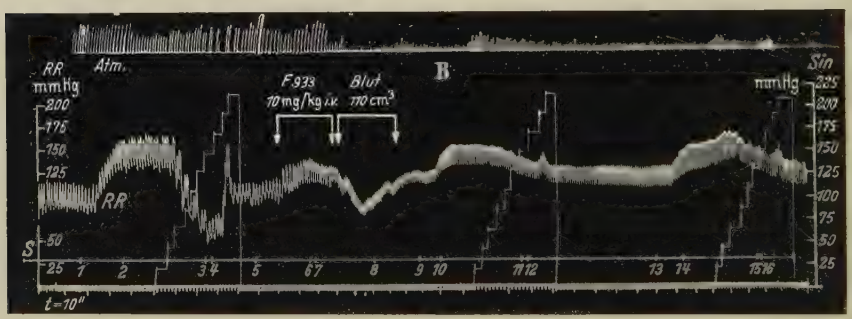
Die Prüfung der Blutdruckreflexe bei Eingriffen in den efferenten Teil des Reflexbogens schien uns aus mehreren Gründen wichtig. Einmal im Hinblick auf die nicht selten geübte Methode, aus Veränderungen der Erfolge einer Abklemmung der A. carotis unmittelbar etwas über einen

zentralen Angriff eines Stoffes aussagen zu wollen. Ein solches Verfahren birgt zweifellos Fehlermöglichkeiten in sich.

Einmal wirkt sich jede Veränderung des Minutenvolumens vor allem in der Größe der Abklemmeffekte aus. Wie Palme[16] zeigen konnte, läßt die genaue Prüfung des pressoreceptorischen Reflexbogens mittels der Stufenkurve erkennen, daß Veränderungen des Minutenvolumens, z. B. durch einen Aderlaß, zwar den regulierten und den maximalen Blut-



a



b

Abb. 6. *Wirkung eines Sympathicolytikums (F 933) auf die Blutdruckreflexe mit und ohne anschließende Bluttransfusion.* Hund, ♂, 7,0 kg. Morphium-Chloralose-Narkose, Sinuspräparat rechts, Vagotomie beiderseits. Bedeutung der Kurven von oben: Atmung (*Atm*), Blutdruck (*RR*), Signallinie (*S*), Zeitlinie (t = 10 sec), Druck im Sinuspräparat.

a Signale *1*, *7* und *11* Abklemmung der A. carot. links. *2*, *8* und *12* Beginn der stufenweisen Druckerhöhung im Sinuspräparat. *3*, *9* und *13* Ende der Druckerhöhung. *4*, *10* und *14* Aufklemmung der A. carotis links. Bei den Pfeilen intravenöse Injektion von 10 mg/kg F 933.

b Gleiches Tier, 6 Std später. Signale *1*, *9* und *13* Abklemmung der A. carot. links; *2*, *10* und *14* Beginn der stufenweisen Druckerhöhung im Sinuspräparat rechts; *3*, *11* und *15* Ende der Druckerhöhung; *4*, *12* und *16* Aufklemmung der A. carot. links. Bei den Pfeilen intravenöse Injektion von 10 mg/kg F 933 und anschließend Infusion von 110 cm³ mit Citrat konserviertem Hundeblut. Beschreibung der Kurven siehe Text.

druck erheblich beeinflussen können, während aber die Kurven der Blutdrucksenkung durch Erhöhung des endosinualen Druckes, ausgedrückt in Prozenten des Gesamtsenkungserfolges, praktisch aufeinander fallen. Dies beweist, daß der Zustand des nervösen Reflexbogens der gleiche geblieben ist. Es ist aber gerade das Ziel der Analysen, hierüber etwas auszusagen.

Weiter sind die Veränderungen der Höhe des regulierten Blutdruckes und der Größe des Reflexerfolges bei Unterbrechung des Reflexbogens an verschiedenen Stellen untereinander gleich. Die Skizze, Abb. 7, mag die einzelnen Angriffsmöglichkeiten schematisch wiedergeben. Eine vollständige Unterbrechung der efferenten Bahnen, gleichgültig ob bei a, b oder c, d. h. im Gebiet des Halsmarkes selber, in den sympathischen Ganglien (sofern sie alle gleichmäßig betroffen werden) oder an den Endigungen, hat ein völliges Schwinden der zentralen Vasoconstriction und der reflektorischen Variationsmöglichkeit zur Folge; ein Zustand, der nach der Duchtrennung des Halsmarkes durchaus geläufig ist. Der Blutdruck sinkt auf den paralytischen Wert ab, der dann von peripheren Faktoren, wie Blutfüllung, stofflichen Einflüssen u. a., abhängig ist. Es ist selbstverständlich, daß bei diesem Zustand aus dem Fehlen einer Wirkung durch einen bestimmten Stoff nicht ohne weiteres auf einen zentralen Angriff geschlossen werden kann, denn wenn keine Impulse zu den Ganglien oder Endigungen gelangen, können dort auch keine blockiert werden.

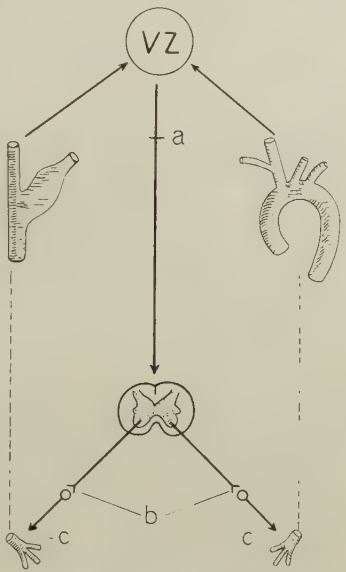


Abb. 7. *Schema des pressoreceptorischen Reflexbogens.* Afferente Bahn vom Aortenbogen und Carotissinus zum Vasomotorenzentrum (*VZ*). Efferente Bahn über das Rückenmark (*a*) und die sympathischen Ganglien (*b*) zu den arteriellen Gefäßen (*c*).

Eine teilweise Unterbrechung an den drei genannten Stellen wird diese Einwirkungen nur in mehr oder weniger ausgedehntem Maße zeigen, also eine Senkung des regulierten Blutdruckes und eine Einschränkung der Reflexbreite. Diese muß sich verringern bei gleichbleibendem Minimaldruck, da eine Hemmung im efferenten Schenkel nur im gleichen Sinne wirken kann wie eine Hemmung des Vasomotorenzentrums durch Reizung der pressoreceptorischen Elemente. Eine Verringerung des Erfolges der maximalen Reizung, d. h. ein Anstieg des Minimaldruckes, ist nicht zu erwarten, sofern nicht andere Wirkungsmöglichkeiten im Sinne einer Zunahme des peripheren Gefäßtonus oder einer zentralen Erregung vorliegen.

Wir wollen nun unsere Versuchsresultate daraufhin prüfen, wieweit sie mit der Annahme einer Blockade vereinbar sind.

Bei Anwendung genügend hoher Dosen von Ganglienblockern und Sympathicolytika können der regulierte Blutdruck gesenkt und dabei die reflektorischen Schwankungen durch die pressoreceptorische Steuerung ausgelöscht werden. Daß dieser Effekt tatsächlich auf einer Ausschaltung der nervösen Steuerung beruht, konnte durch Hebung des

Blutdruckniveaus durch Transfusion wahrscheinlich gemacht werden: die Reflexbreite blieb unverändert klein und kehrte erst in der üblichen Zeit der Wirkung der Medikation zurück. Ebenso ließ sich der Blutdruckanstieg in der ersten Phase der Erstickung durch ausreichende Dosen von Ganglienblockern verhindern.

Neben den Befunden, die für eine Blockade der efferenten Reflexbahn sprechen, ergaben sich aber in den Versuchen auch andere, die durch weitere Wirkungsmechanismen erklärt werden müssen.

Bei den Ganglienblockern wird seit den Arbeiten von Acheson und Moe[1], Luco und Marconi[13] angenommen, daß die Befunde, die vor allem am Ganglion cerv. cran. erhoben wurden (prä- und postganglionäre Reizung, Beobachtung des Reizerfolges an der Nickhaut), auch auf die übrigen insbesondere sympathischen Ganglien übertragen werden können. Neben diesen Effekten auf die nervösen Bahnen müssen aber nach den Arbeiten von Siems und Rottenstein[20] auch lokal gefäßerweiternde Wirkungen in Betracht gezogen werden. Diese Autoren fanden in Versuchen mit Durchblutung einer Extremität von einem Spendentier bei erhaltener nervöser Versorgung sowohl eine Gefäßdilatation auf dem Blutwege als eine solche auf dem Nervenwege.

Es ist deshalb möglich, daß bei der schnellen Blutdrucksenkung durch Dosen, die die nervösen Impulse nicht sicher blockieren, auch eine solche direkte Dilatation eine Rolle spielt, was sich im Verhalten des regulierten Blutdruckes und der Blutdruckcharakteristiken in gleicher Weise wie die nervösen Veränderungen äußern würde.

Eine Wirkung der Ganglienblocker, die den erweiternden Effekten entgegengesetzt ist, besteht in der Zunahme des Eigentonus der Gefäße, die in einer Steigerung des Minimaldruckes zum Ausdruck kommt. Dies wurde vor allem in einem Dosierungsbereich beobachtet, der auch für die Therapie in Frage kommt (0,3—1,0 mg/kg Pendiomid, 5—10 mg/kg TAB). Die weiteren Befunde über eine Verstärkung der Adrenalineffekte bestätigen die Angaben von Page u. Taylor[15].

In der Deutung möchten wir aber entgegen diesen Autoren annehmen, daß es sich dabei nicht um einen Ausfall der über die Pressoreceptoren gehenden Gegenregulation handelt, weil der Effekt sich auch am Tier mit durchschnittenem Halsmark nachweisen ließ. Überdies ist die Beteiligung von vasodilatatorischen Elementen am Carotis-Sinus-Reflex sehr wenig wahrscheinlich, wie auch neuerdings von Celander und Folkow[5] nachgewiesen wurde.

Die Deutung des gefundenen Anstiegs des Minimaldruckes auf Grund einer Wirkungssteigerung körpereigenen Adrenalins (oder ähnlicher Stoffe) erscheint nicht gezwungen. Der Vorgang ist augenscheinlich ein mittelbar-stofflicher, da er erst im Abstand von einigen Minuten nach den sonstigen Erscheinungen auftritt.

Eine vasoconstrictorische Komponente wohnt auch den dihydrierten Sekalealkaloiden inne (Rothlin[19]). Diese tritt auch in unseren Versuchen zutage, wo sich nach Hydergin und Dihydroergotamin nicht nur eine Verkleinerung der Reflexbreite, sondern auch ein Anstieg des Minimaldruckes zeigte, wenn der Vagus durchschnitten war. Wir glauben, daß

die Blutdrucksteigerung, die sich am Spinaltier nachweisen läßt (Rothlin[19]) und diese Steigerung des Minimaldruckes auf den gleichen Vorgang, nämlich auf einen direkten Angriff an der glatten Muskulatur der Gefäße, zu beziehen ist. Da sich Hemmung der sympathischen Vasokonstriktion und direkte Zunahme des Gefäßtonus zueinander addieren, wird am regulierten Blutdruck des Ganztieres die constrictorische Komponente nicht sichtbar, wahrscheinlich auch nicht an der Durchblutung der einzelnen Arterie. Bei Tieren mit erhaltenem Vagus blieb der Minimaldruck unter verstärkter Bradykardie während der maximalen Druckerhöhung im Sinuspräparat gleich. Es bleibt keine andere Erklärungsmöglichkeit, als daß hier ein verringertes Minutenvolumen (über ein relatives Überwiegen des Vagus, Rothlin[19]) den direkt vasoconstrictorischen Effekt kompensiert hat.

Den übrigen untersuchten Sympathicolytika, Opilon und Benzodioxan, fehlt diese konstriktorische Komponente. Allen gemeinsam ist ein Phänomen, das wir als einen zentralen Angriff deuten möchten. Die Erhöhung der Schwelle, d. h. des endosinualen Druckes, der eben zu einem Absinken des Blutdruckes im Gesamtkreislauf führt, ist nicht leicht zu erklären. Da jedoch diese Schwellenveränderung in gleicher Richtung und gleichem Ausmaß wie bei den Narkotica (Kalkoff[9]) vor sich geht, glauben wir berechtigt zu sein, einen zentral dämpfenden Effekt annehmen zu können, was mit den Befunden anderer Autoren (Rothlin[19], Euler und Hesser[6]) übereinstimmt. Bei einem dämpfenden Effekt würde eine leichtere Hemmbarkeit des Zentrums an sich leichter verständlich sein; jedoch sind wir über die Vorgänge bei hemmenden Reflexen noch wenig unterrichtet.

Nach dieser Diskussion der Befunde noch ein Wort zur Frage der Zweckmäßigkeit von medikamentösen Eingriffen in die nervöse Regulation. Wir haben aus unseren Versuchen immer wieder den Eindruck gewonnen, daß es für den Organismus doch ein erheblicher Eingriff ist, wenn man ihn seiner Reflexe beraubt. Die Tiere gingen auch bei Anwendung nicht toxischer Dosen von Ganglienblockern eher zugrunde, als das von anderen Versuchsserien gewohnt war. Die mit den Versuchsbedingungen notwendigerweise verbundenen Schäden summierten sich offenbar mit denen einer ausgedehnten nervösen Blockade. In der angewandten Therapie liegen die ersteren (z. B. Narkose, Vagotomie) im allgemeinen nicht vor, so daß die Folgen der letzteren nicht so schwerwiegend sind. Auch hält sich die Dosierung in Grenzen, die keine volle Blockade herbeiführt. Dabei können aber die (constrictorisch wirksamen) Nebeneffekte hervortreten. Wir halten es nicht für ausgeschlossen, daß die widersprechenden und zunächst nicht erklärbaren Befunde über das Verhalten des peripheren Widerstandes (Heidelmann, Marx und Hasse[7], Kaiser, Reich und Sarre[8]) zum Teil dadurch bedingt sind. Bei scharfer Indikationsstellung in akuten Zuständen sprechen jedoch die Berichte klinischer Autoren von günstigen therapeutischen Resultaten.

Vorteilhaft erscheint bei den Sympathicolytika die Erhaltung der parasympathischen Reflexe und der zentral dämpfende Angriff, wodurch der Ausfall der sympathischen Reflexe nach unserer Ansicht nicht so bedenklich wirkt, wie das von Hildebrand und Marquardt[13] ausgeführt wurde. Immerhin kann der Ausfall der Regulationstätigkeit bei Anwendung beider Gruppen von Medikamenten schon in einem solch einfachen Falle wie der reflektorischen Blutdruckänderung beim Aufstehen sich unangenehm bemerkbar machen (Mechelke und Nusser[14], Brown, Wood und Lambert[4], Ströder[21], eigene Versuche).

Zusammenfassung.

1. Durch quantitative Auswertung der Carotissinusreflexe in Form von Blutdruckcharakteristiken werden die Folgen einer Unterbrechung des pressoreceptorischen Reflexbogens untersucht.

2. Ganglionär und sympathisch blockierende Stoffe führen gemeinsam zur Senkung des regulierten Blutdruckes bei Verkleinerung der Reflexbreite zwischen Enthemmung und maximaler Hemmung des Vasomotorenzentrums. Bei Hebung des Blutdruckniveaus durch Bluttransfusion bleibt die Reflexbreite klein.

3. Neben dieser Wirkung stehen zum Teil entgegengesetzte Effekte: direkt vasoconstrictorische bei den dihydrierten Sekalealkaloiden; indirekte bei den Ganglienblockern, die wahrscheinlich durch eine Wirkungssteigerung von Adrenalin bzw. verwandten Stoffen zu erklären sind.

4. Kurven der Reflexerfolge bei Hemmung des Vasomotorenzentrums durch stufenweise Druckerhöhung in einem Carotissinusblindsack (Blutdruckcharakteristiken) ergeben nach Anwendung von Sympathicolytika (Hydergin, Dihydroergotamin, Opilon und Piperidinomethylbenzodioxan) eine Erhöhung der Schwelle, d. h. des endosinualen Druckes, bei dem eben eine Blutdrucksenkung eintritt. Diese Schwellenänderung wird in Analogie zu Befunden bei Narkotica als Ausdruck einer zentralen Dämpfung gedeutet.

5. Auf die Unspezifität der Reflexerfolge bei Ausschaltung der Pressoreceptoren durch Abklemmung der A. carotis wird hingewiesen.

6. Die Frage der Zweckmäßigkeit von Eingriffen in die Reflextätigkeit wird kurz diskutiert.

Literatur.

[1] Acheson, G. H., and G. K. Moe: J. of Pharmacol. **84**, 189 (1945). — [2] Acheson, G. H., and S. A. Pereira: J. of Pharmacol. **87**, 273 (1946). — [3] Bein, H. J., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **81**, 446 (1951). — [4] Brown, G. E., E. H. Wood and E. H. Lambert: J. Appl. Physiol., Wash. **2**, 117 (1949). — [5] Celander, O., and B. Folkow: Acta physiol. Scand. **23**, 64 (1951). — [6] v. Euler, U. S., u. C. M. Hesser: Schweiz. med. Wschr. **77**, 61 (1947). — [7] Heidelmann, G., H. Marx u. H. Hasse: Klin. Wschr. **28**, 631 (1950). — [8] Kaiser, F., E. Reich u. H. Sarre: Dtsch. med. Wschr. **76**, 1443 (1951). — [9] Kalkoff, W.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg **17**, 204 (1951). — [10] Koch, Eb.: Die reflektorische Selbststeuerung des Kreislaufes. Dresden u. Leipzig: Steinkopff 1931. — [11] Koch, Eb.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg **11**, 278 (1938). — [12] Luco, J. V., and J. Marconi: J. of Pharmacol. **95**, 171 (1949). — [13] Hildebrand, G., u. P. Marquard: Arzneimittelforsch., Aulendorf **1**, 266 (1951). — [14] Mechelke, K., u. E. Nusser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 1 (1951). — [15] Page, I. H., and R. D. Taylor: Circulation (Baltimore) **1**, 1233 (1950). — [16] Palme, F.: Exper. Med. (New York) **9**, 404 (1951). — [17] Palme, F., u. H. Häusler: im Druck. — [18] Palme, F., u. J. Vogel: im Druck. — [19] Rothlin, E., u. A. Cerletti: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg **15**, 158 (1949). — [20] Siems, L. J., and H. S. Rottenstein: Amer. J. Med. Sci. **220**, 649 (1950). — [21] Ströder, U.: Cardiologia (Basel) **17**, 127 (1950).

Dr. H. Marx, Med. Klinik der Städt. Krankenanstalten Darmstadt.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 427—431 (1953).

Aus dem „Istituto Carlo Erba per Ricerche terapeutiche" Laboratorio di Biologia (Dir.: Prof. V. Capraro).

Pharmakologische Untersuchungen über ein neues Hypnotikum 3-Cyclopropyl-butin-(3)-ol (2).

Von

A. Meli und J. Franceschini*.

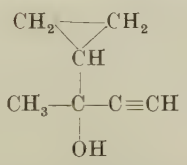
Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 23. Januar 1953.)

Einführung.

Kürzlich ist eine neue Klasse von ungesättigten Carbinolen [16] untersucht worden, die durch ihre hohe hypnotische Aktivität und ihre niedrige Toxizität gekennzeichnet sind. Eine dieser Verbindungen, nämlich das 3-Methyl-pentin-ol-3 (MP), wurde vom pharmakologischen[9, 15, 17] wie vom klinischen[6, 9, 13] Standpunkt aus studiert.

In der vorliegenden Untersuchung ist die Aktivität des 2-Cyclopropyl-butin-(3)-ols(2) (CB) pharmakologisch geprüft worden. Formel:



Die Verbindung stellt eine Flüssigkeit dar, die den typischen Geruch der Äthinylcarbinole besitzt. Sie hat einen Siedepunkt von 50—52°/15 mm, einen Brechungsindex von 1,467 (19° C) und ein spez. Gewicht von 0,934 (19° C)**.

Akute Toxizität.

Die akute Toxizität wurde nach dem Verfahren von Prigge u. Schäfer[18] graphisch bestimmt. Die DL_{50} bei der Maus betrug bei der intraperitonealen Verabreichung:

525 mg/kg für MP,
470 mg/kg für CB,
220 mg/kg für Nirvonalnatrium.

---

* Unter Assistenz von V. Arioli, Chemotechniker.

** Sie wurde von W. Logemann und G. Gennari synthesisiert, D.R.P. Anmeld. E 6085/IV c/120.

Hypnotische Wirkung.

Als Versuchstiere wurden weiße Mäuse mit einem Gewicht von 18—22 g aus unserer Zucht verwendet. Die zu prüfenden Substanzen wurden intraperitoneal gegeben. Die Dauer der hypnotischen Wirkung wurde an der Zeit gemessen, die zwischen dem Verlust und dem Wiederauftreten des Stellungsreflexes der auf den Rücken gelegten Tiere verstrich. Die Temperatur betrug etwa 20° C.

Die Dauer des so definierten hypnotischen Zustandes war ungefähr eine Exponentialfunktion der angewandten Dosis (siehe Abb. 1). Wir stellten graphisch fest, daß für eine Narkose von 75 min eine Dosis von 400 mg/kg MP und 320 mg/kg CB nötig sind.

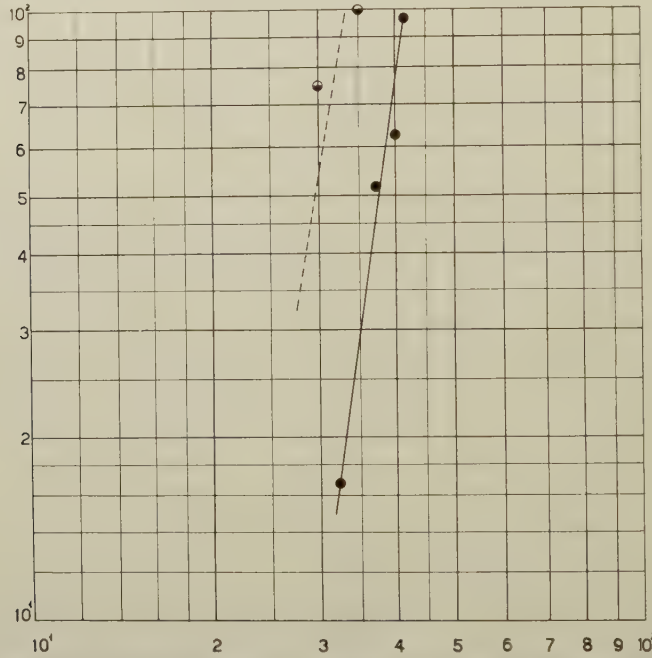


Abb. 1. Dauer der Narkose bei Mäusen in Abhängigkeit der Dosis MP (schwarze Punkte) oder CB (schwarz-weiße Punkte). Auf der Abzisse sind die Dosen (in mg/100 g) und auf der Ordinate die Narkosedauer (in Minuten) beides in logarithmischen Maßen eingetragen.

Wirkung auf den Blutdruck und auf das Pneumogramm.

Als Versuchstiere wurden männliche Kaninchen mit einem Gewicht von ungefähr 2 kg verwendet, die vorher i. v. mit Urethan narkotisiert wurden (1 g/kg). Die Atmung und der Druck wurden mit der gewöhnlichen Technik registriert. Auf gleiches Gewicht (50 mg/kg) hatten i. v. Dosen von MP und CB nach Intensität und Dauer ungefähr die gleiche Wirkung auf Atmung und Druck.

Der arterielle Blutdruck fiel rasch ab, um dann nach kurzer Zeit wieder normale Werte anzunehmen. Die Atmung nahm an Tiefe und zuweilen auch an Frequenz ab, aber nur für kurze Dauer und meist in geringer Intensität.

Wirkung auf das Atmungszentrum.

Als Versuchstiere wurden männliche Kaninchen von ca. 2 kg Gewicht in Urethan-Betäubung (1 g/kg), verwendet. Bei diesen Versuchen wurde von den Tieren eine Mischung von 90% O_2 und 10% CO_2 3 min vor der i. v. Injektion der zu prüfenden Substanzen und 10 min danach eingeatmet.

Das intravenös injizierte MP (100 mg/kg) und CB (120 mg/kg) veränderten die Wirkung der CO_2 auf das Atmungszentrum wenig und nur vorübergehend.

Wirkung auf Convulsionen durch Metrazol (subcorticale Zentren).*

Aus den an der Katze ausgeführten Experimenten von Guttierez-Noriega[10, 11, 12] und am Kaninchen ausgeführten Versuchen von Asuad[1] geht hervor, daß das Metrazol die Hirnrinde erregt; aber auch die Reizung der subcorticalen Zentren reicht aus, um (durch die extrapyramidalen Bahnen) Krämpfe hervorzurufen. Fournier[8] hat bei enthirnten Tauben die Beobachtungen der obengenannten Autoren bestätigt, indem er zeigte, daß Metrazol hauptsächlich auf subcorticalem Wege Krämpfe erzeugt.

Aus Cauchards[3, 4, 5] Versuchen geht hervor, daß Metrazol die Aktivität der Gehirnrinde herabsetzt, während es die niederen Gehirnzentren reizt.

Als Versuchstiere wurden männliche und weibliche Albinoratten (Gewicht 80—130 g) aus unserer Zucht verwendet. Die bei diesen Versuchen verwendete Dosis Metrazol (90 mg/kg) erzeugt in 90% der behandelten Tiere Krampfanfälle mit einer Mortalität von 75—80%. Es wurde den Tieren 30 min nach der Behandlung mit den zu prüfenden Produkten verabreicht.

Das durch Metrazol erzeugte Krampfbild war durch eine erste tonische Phase gekennzeichnet (Erstarren des Körpers und übertriebene Ausspreizung der vorderen und hintern Gliedmaßen), welcher eine zweite clonische Phase folgte, während der unkoordinierte Lauf- oder Schwimmbewegungen eintraten. Sie zeigten sich im Zeitraum von 5—20 min nach der intraperitonalen Injektion von Metrazol.

Tabelle 1.

Anzahl der Tiere	Behandlung	Anzahl der Tiere die Krämpfe aufweisen	Sterblichkeit
5	MP 50 mg/kg	5/5	3/5
10	MP 75 mg/kg	2/10	0/10
20	MP 100 mg/kg	2/20	0/20
10	CB 50 mg/kg	4/10	3/10
25	CB 75 mg/kg	3/25	0/25
114	Keine	104/114	90/114

Die zum Schutz der Tiere gegen die Anfälle notwendigen Dosen betrugen im Minimum etwa 75—100 mg/kg für MP und 50—75 mg/kg für CB (siehe Tab. 1).

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß diese Verbindungen ihre Wirkung zumindest *auch* über die subcorticalen Zentren ausüben.

* = Pentamethylentetrazol.

Wirkung auf die Gehirnrinde.

Gleichartigen Versuchstieren wurde in Urethannarkose (1 g per kg intraperitonal) ein Stück der Schädeldecke entfernt, das medial durch die Sutura sagittalis begrenzt war und sich zu beiden Seiten der Sutura frontoparietalis erstreckte. Dann wurde mittels unpolarisierbarer Silberelektroden der Bezirk der area motoria, der die Bewegungen der hinteren Gliedmaßen hervorruft, gereizt. Dazu diente der Röhrengenerator Modell Electrodyne 463 D, der quadratische Impulse konstant in Frequenz und Intensität, variabel in der Amplitude lieferte.

Nach den erhaltenen Resultaten hat man den Eindruck, daß auch hinsichtlich der Wirkung auf die Hirnrinde CB wirksamer ist als MP (siehe Tab. 2).

Tabelle 2.

Anzahl der Tiere	Behandlung	Reizschwelle vor der Behandlung mittlere Amplitude	Reizschwelle 15 min nach der Behandlung - mittlere Amplitude	Reizschwelle 30 min nach der Behandlung - mittlere Amplitude
3	MP 125 mg/kg intraperitoneal	7,5 ± 0,00*	10,8 ± 1,70	10,8 ± 1,70
5	MP 150 mg/kg intraperitoneal	9 ± 1.50	30,5 ± 8,00	28,5 ± 9,00
4	MP 200 mg/kg intraperitoneal	8 ± 1,20	50,0 ± 0,00	40,0 ± 6,00
3	CB 120mg/kg intraperitoneal	9 ± 0,80	9 ± 0,80	9,0 ± 0,80
5	CB 150 mg/kg intraperitoneal	10 ± 0,80	40,0 ± 6,00	33,5 ± 7,00

* Standardabweichung der mittleren Werte.

Wirkung auf die Atmungsaktivität des isolierten Gehirnes bei Ratten.

Die Wirkung des MP, des CB und des Nirvonalnatriums auf den Sauerstoffverbrauch des isolierten Rattenhirnes wurde nach der Methode von Warburg[7] studiert.

Versuchstiere waren Albinoratten, deren Gehirn nach Dekapitation sogleich in eine Ringer-Krebs-Lösung folgender Zusammensetzung gelegt wurde:

NaCl	0,154 M	100 ml
KCl	0,154 M	4 ml
$CaCl_2$	0,110 M	3 ml
$MgSO_4$	0,154 M	1 ml
Phosphat-Puffer	p_H 7,4	21 ml

dazu Glucose (0,2%)[2].

Das Gehirn als Ganzes wurde mit zwei gläsernen Objektträgern festgelegt und dann mittels eines Rasiermessers in Schnitte von 0,5—0,7 mm Dicke geteilt. Von zwei Schnitten aus dem mittleren Teil des Gehirnes diente einer als Kontrolle. Jedes Experiment wurde mit 6 Schnitten (von 3 Ratten) von 50—70 mg ausgeführt, die in 3 ml der obenbeschriebenen, mit Sauerstoff gesättigten Lösung in einen Warburgschen Glastrog übergeführt wurden. Im Einsatzgefäß befand sich 0,1 ml 10% NaOH, im seitlichen Ansatz die zu prüfende Substanz in Mengen, die der Endkonzentration von 0,100% für MP; 0,090% für CB; 0,044% für Nirvonalnatrium entsprechen.

Die Gasphase bestand aus reinem O_2, die Temperatur betrug 38° C[14]. Die Dauer eines Versuches betrug ungefähr 2 Std.

Aus den in die Tabellen übertragenen QO_2-Werten geht hervor, daß bei Dosen von gleicher Toxizität die vom CB verursachte Abnahme des O_2-Verbrauches des Gehirnes ungefähr zweimal so groß ist wie die Abnahme bei MP. Das Nirvonalnatrium verursacht eine Abnahme, die etwa 4mal geringer ist als diejenige unter CB.

Tabelle 3. *$Q\,O_2$ Differenzen zwischen Kontroll- und Versuchsdaten.*

Kontrollen	MP	Kontrollen	CB	Kontrollen	Nirvonal
— 3,80	— 27,50	0,00	— 49,20	+ 0,30	— 16,90
— 4,50	— 26,00	+ 3,60	— 39,30	— 0,20	— 10,80
— 11,70	— 33,00	— 4,90	— 44,30	— 5,90	— 19,20
— 0,60	— 24,80				
— 5,10%	27,80%	— 0,40%	— 44,30%	— 1,90%	— 15,60%

Zusammenfassung.

Es wurde im Vergleich zu 3-Methyl-pentin-ol-3 (MP) die pharmakologische Aktivität des 2-Cyclopropyl-butin-(3)-ol(2) (CB) einer chemischen Verbindung der Äthinylcarbinol-Reihe studiert.

Die neue Substanz übt bei einer nur wenig höheren akuten Toxizität eine größere hypnotische Aktivität und eine größere hemmende Wirkung auf die elektrische und chemische Erregbarkeit der Gehirnzentren und deren Stoffwechsel aus als MP.

Literatur.

[1] Asuad, J.: Thèse Médicale Paris, 1940, 118, p. Foulon ed. (119 ref.). — [2] Buchel-Olzycza, L.: Bull. Soc. Chim. biol., Paris **28**, 333 (1946). — [3] Chauchard, P.: Presse méd. **1945**, 454. — Rev. Scient. **1941**, 620. — [4] Chauchard, P., et I. Bertrand: Bull. Acad. Méd. **128**, 607 (1944). — [5] Chauchard, P., H. Mazove et R. Lecocq: Ann. pharmaceut. franç. **3**, 143 (1945); (25 ref.) — C. r. Acad. Sci. Paris **217**, 619 (1943). — [6] Chevalley J., N. Heminway, G. Meyer, R. Frankhauser and T. H. McGavack: N. Y. State J. Med. **52**, 572 (1952). — [7] Dixon, M.: "Manometric Methods" 1951, 3a Ed. Cambridge Univ. Presse. Ummbreit, W. W., R. H. Burris, and J. F. Stauffer: "Manometrics Tecniques and Tissues Metabolism". Minneapolis: Burgess Publish Co. 1949. — [8] Fournier, P.: Thèse Médicale Paris, 1945, 69 p. Reboul Paris (16 ref.) — [9] Genazzani, E., et P. Petrone: Minerva med., Paris **2**, 667 (1952). — [10] Guttierez-Noriega, C.: Rev. neuro-psiquiatr., Lima **1**, 85 (1938). — [11] Guttierez-Noriega, C.: J. Neuropath., Baltimore **2**, 132 (1943). [12] Guttierez-Noriega, C., H. Rotondo, Alanot: Ann. Faculté Ciencias Medicas Lima, 1939. — [13] Hirsh & Orsinger: Amer. Pract. Digest Treatm. **3**, 23 (1952). — [14] Jowett, M., J. M. Quastel: Biochemic. J. **31**, 565 (1937). — Westfall, B. A.: J. of Pharmacol. **101**, 163 (1951). — [15] Margolin, S., P. Perlmann, F. Villani and T. H. McGavack: Science (Lancaster, Pa.) **114**, 384 (1951). — [16] Papa, D., F. J. Villani and H. F. Ginsberg: Arch. Bioch. Biophys. **33**, 482 (1951). — [17] Perlmann, P., and C. Johnson: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **41**, 13 (1952). — [18] Prigge, R., u W. Shaefer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **191**, 218 (1939).

Dr. A. Meli, Istituto Carlo Erba per Ricerche terapeutiche Laboratorio di Biologia, Milano/Italia, Via C. Imbonati 24.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 432—442 (1953).

Aus dem Institut für normale und pathologische Physiologie der Universität Köln.

Die Bronchienwirkung aralkylierter Adrenalin- und Adrenalonabkömmlinge.

Von

N. Ludwigs und M. Schneider.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1953.)

Durch systematische Substitution des Adrenalinmoleküls an der Aminogruppe durch aliphatische Radikale gelangte Konzett[5] 1940 zu broncholytisch hochwirksamen Derivaten. Seine Befunde haben vielseitige Bestätigung erfahren, so erst kürzlich an menschlichen Bronchien durch Hawkins und Schild[3]. Unser Wissen um den Zusammenhang von chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung dieser Stoffklasse wurde seitdem erweitert durch systematische Untersuchung verschiedener N-substituierter Adrenalinderivate und durch Verwendung anderer, dem Adrenalin nahestehender Moleküle als Grundkörper, besonders durch die Arbeiten von Tainter, Lands u. Mitarb.[8, 9, 10, 18].

In den letzten Jahren wurden von uns in Fortsetzung der Arbeiten von Külz (zusammengefaßt dargestellt bei Külz u. Schneider[7], Wiemers[20]) aralkylierte Adrenalinderivate eingehend untersucht. Zur Vervollständigung des pharmakologischen Bildes dieser Stoffklasse wandten wir uns in der nachfolgenden Arbeit ihrer broncholytischen Wirksamkeit zu. Wiederum hielten wir es für notwendig, eine systematische Abwandlung des Grundmoleküls und der Seitenkette vorzunehmen, um ein möglichst vollständiges Bild zu erhalten. Zudem erhofften wir so einen Hinweis, durch welche Veränderungen eine gewisse Dissoziation der Kreislauf- und der broncholytischen Wirkung erreicht werden könne. Aus diesem Grunde wurden auch die Adrenalonderivate in die Untersuchung einbezogen, da nach älteren klinischen Mitteilungen[21] das Adrenalon eine gute antiasthmatische Wirkung bei fast fehlender Kreislaufwirkung entfalten soll; in Tierversuchen wurde allerdings eine solche Dissoziation bisher nicht bestätigt[11].

Eine kurze vorläufige Mitteilung unserer Ergebnisse ist bereits in der Klin. Wschr.[16] erfolgt.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an 75 Hunden im Gewicht von 4—9 kg in Morphium/Chloralose-Narkose (0,0025/0,1 g/kg) durchgeführt. Die Prüfung auf broncholytische Wirksamkeit erfolgte nach der Methode von Konzett und Rössler[6], die sich uns als geeignet zur Durchuntersuchung einer größeren Stoffklasse erwies. Die Applikation der untersuchten Substanzen erfolgte intravenös in die V. jugularis.

Den Blutdruck registrierten wir zusätzlich mit einem einfachen Membranmanometer in der A. femoral. Die Körpertemperatur der Versuchstiere wurde auf 38° C konstant gehalten.

Zur Erzeugung des Bronchospasmus benutzten wir Histamin, das wir durch einen intravenösen Dauertropf in die V. femoral. applizierten (25—60 γ/min). In orientierenden Vorversuchen hatten wir am isolierten Meerschweinchendarm gesichert, daß den von uns untersuchten Substanzen keine spezifisch-histaminantagonistische Wirkung zukommt. Zudem verwandten wir einige Male zur Kontrolle den Pilokarpinspasmus und den Lungenspasmus durch Vagusreizung. Die Übertragung tierexperimentell gewonnener Befunde auf die Therapie des Menschen, die ja schlechthin eine Schwierigkeit bedeutet, wird in unserem Falle des Vergleichs des Histaminspasmus am Hund und des Asthma bronch. des Menschen gerechtfertigt durch neuere Untersuchungen von Lopetz-Botet, Wyss und Wilbrandt[12], die in pneumotachographischen Untersuchungen eine Analogie zwischen dem Histaminasthma des Meerschweinchens und dem menschlichen Asthma fanden.

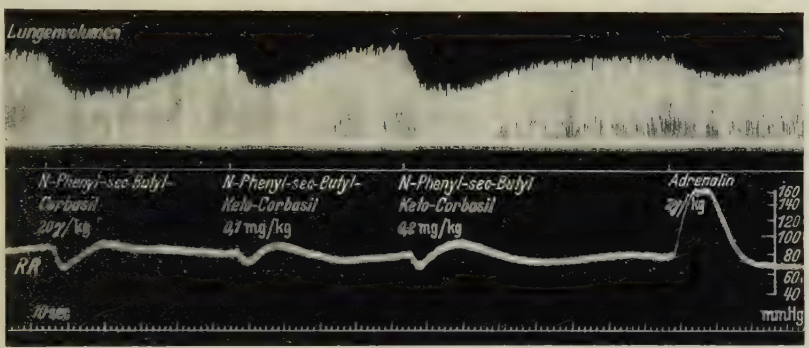


Abb. 1. Vergleich der Wirkung von N-Phenyl.-sec.-Butyl-Corbasil und der analogen Ketoverbindung neben Adrenalin auf das Lungenvolumen und den Blutdruck. Die C_1-Ketoverbindung ergibt bei gleicher Bronchienwirkung eine schwächere Blutdruckwirkung als die C_1-Alkoholverbindung.

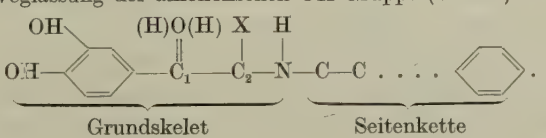
Eine quantitative Auswertung, d. h. die prozentuale Ermittlung des Ausmaßes der Beeinflussung, schien uns in unseren Untersuchungen nicht möglich. Wir verwandten deshalb die Bronchienwirkung von Adrenalin (2 γ/kg), N-Phenyl-sec-Butyl-Corbasil-Keton = 1 Dioxyphenyl-2 Phenylisobutylamino-1 propanon (0,1 mg/kg) oder N-Isopropyl-Corbasil-Keton = 1 Dioxyphenyl-2 Isopropylamino-1 propanon (0,1 mg/kg) vergleichend zur Ermittlung der Intensität der geprüften Körper (Abb. 1).

Es wurde sowohl das Grundmolekül wie die Seitenkette des Adrenalins variiert und jeweils das Adrenalin- mit dem Adrenalonderivat (also der C_1-Alkohol mit dem C_1-Keton) verglichen. Das Grundskelet wurde variiert

1. Durch Übergang zu den Monooxyderivaten, wobei die phenolische OH-Gruppe in p-, m- und o-Stellung untersucht wurde,

2. durch Substitution einer CH_3 oder C_2H_5-Gruppe an C_2, indem also entweder Corbasil oder Butanefrin (1 Dioxyphenyl-2 Amino-1 propanol und = butanol) als Ausgangssubstanz gewählt wurde,

3. durch Weglassung der alkoholischen OH-Gruppe (Veritol)



Die Seitenkette wurde variiert, indem sekundäre Amine mit verschiedenen Radikalen am N geprüft wurden:

1. Rein aliphatische, verzweigt und unverzweigt.
2. Aromatisch-aliphatische mit verschiedener Länge der aliphatischen Kette, wobei diese wiederum in einigen Fällen verzweigt und unverzweigt geprüft wurden.

Ergebnisse.

Die Vielzahl der durch Kombination dieser Variationen möglichen Verbindungen konnte in unseren Versuchen nicht erschöpfend durchuntersucht werden. Vielmehr bemühten wir uns, durch geeignete Auswahl der Verbindungen einen Überblick über die gesamte Stoffklasse zu erhalten.

A. Bronchienwirkung.

Die broncholytische Wirksamkeit der von uns untersuchten Substanzgruppe ist in Tab. 1 zusammengefaßt wiedergegeben. In dieser Tabelle geben die Zahlen die relative Wirkungsstärke der Substanzen bezogen auf die Adrenalinbroncholyse = 100 an. Die C_1-Alkoholverbindungen(Adrenalinabkömmlinge) sind neben ihren analogen C_1-Ketoverbindungen (Adrenalonabkömmlinge) aufgeführt.

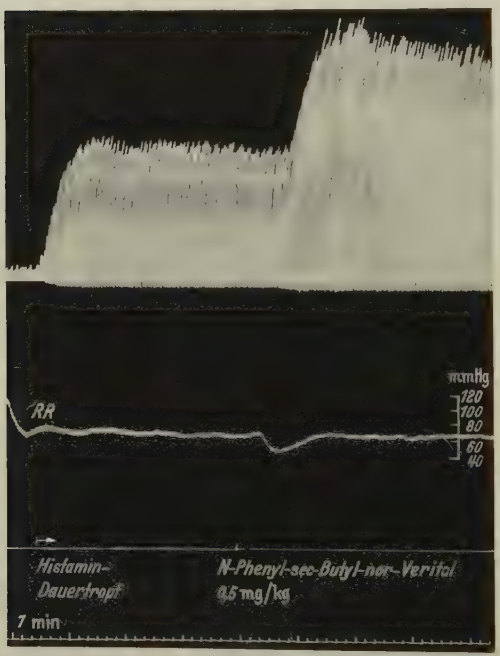


Abb. 2. Beispiel für eine bronchokonstriktorisch wirkende Substanz (siehe Text).

Grob sind die geprüften Verbindungen zunächst in Dioxyphenyl- und in Monooxyphenylderivate einzuteilen. Bei letzteren geht bei zunehmender Entfernung vom Adrenalin die bronchodilatatorische Wirkung verloren und macht z. T. einer Bronchokonstriktion Platz (Abb. 2). Den Tabellenteil, der Substanzen enthält, die nicht mehr broncholytisch oder sogar bronchostriktorisch wirken, haben wir durch Umrandung hervorgehoben, wobei diese Substanzen in Konzentrationen geprüft wurden, die auf den gleichen Kreislaufeffekt abgestimmt waren, der bei den übrigen Derivaten mit der Standard-Broncholyse verknüpft war.

Eine Schwierigkeit bei der Beurteilung der Wirksamkeit der untersuchten Stoffe bestand darin, daß nicht in jedem Falle sauber getrennte Isomere zur

Verfügung standen. Zum Wirkungsvergleich zogen wir die wirksamste Fraktion heran. Stand bei Isomerenmöglichkeit nur eine Fraktion zur Verfügung, so ist das erhaltene Resultat in der Tab. 1 eingeklammert.

Ferner ist beim Vergleich der absoluten Wirksamkeit hervorzuheben, daß Unterschiede im Molekulargewicht — wir vergleichen Dosis pro kg Tier — unberücksichtigt blieben. Bei Heranziehung des Molekulargewichtes zum Wirkungsvergleich verschiebt sich die absolute Intensität beträchtlich zugunsten der aralkylierten Stoffe.

B. Sonstige pharmakologische Wirkungen.

1. Wirkung auf den Kreislauf.

Alle geprüften Substanzen mit verlängerter Seitenkette am N wirken blutdrucksenkend. Allgemein kann gesagt werden, daß die Wirkung auf den Blutdruck bei Veränderung der N-Seitenkette sich quantitativ gleich ändert wie die bronchodilatatorische Wirksamkeit, was für rein aliphatisch substituierte Derivate auch Corrigan, Langmann u. Moore[1] angeben. Wurden broncholytisch gleich wirksame Dosen der verschiedenen Derivate untersucht, so war auch ihre Wirkung auf den Blutdruck gleich.

Vergleichen wir C_1-Alkohol- und C_1-Ketoverbindungen, so lassen die Ketoverbindungen eine starke absolute Wirkungsabnahme erkennen, wie für einige andere Ketoverbindungen von Adrenalinabkömmlingen bereits Fellows[2] angibt. Jedoch ergab sich, daß die Kreislaufwirksamkeit durch die Ketonisierung stärker abgeschwächt wird als die Wirkung auf die Bronchien (Abb. 1). In eigens durchgeführten Blutdruckversuchen mit dem Federhebelmanometer nach Frank-Petter zeigten allgemein die Adrenalonderivate im Vergleich zu ihren entsprechenden Adrenalinabkömmlingen bei einer Dosierung, die am Histaminspasmus als broncholytisch gleich wirksam ermittelt worden war, einen um 30% geringeren Effekt. Bezüglich Herzfrequenzsteigerung und Veränderung der Amplitude war bei gleicher Blutdrucksenkung kein sichtbarer Unterschied zwischen C_1-Alkohol- und C_1-Ketoverbindungen zu beobachten.

Die angegebene Dosierung bezieht sich auf die intravenöse Applikation. Bei intramuskulärer Gabe muß, um gleiche absolute Broncholyse zu erreichen, die Dosierung zehnfach erhöht werden, wobei allerdings die Wirkungsdauer erheblich verlängert wird (ca. 40 min gegenüber 6 -10 min bei intravenöser Gabe) und der Blutdruckeffekt fast völlig entfällt (Abb. 3).

Wir können also zur Kreislaufwirkung unserer untersuchten Derivate sagen, daß ausschließlich ein quantitativer Unterschied zwischen C_1-Alkohol- und C_1-Ketoverbindung besteht. Bei Berücksichtigung dieses Sprungs in der Wirkungsabnahme durch die Ketonisierung können wir die übrigen Daten der C_1-Alkoholderivate, die z. T. eingehend von Wiemers[20] untersucht wurden, übernehmen. Aus der Tabelle ist demnach auch anhaltsweise die Kreislaufwirksamkeit der Ketoverbindungen zu entnehmen, unter Berücksichtigung einer um 30% stärkeren Wirkungsabnahme gegenüber der Bronchienwirkung.

Tabelle 1.

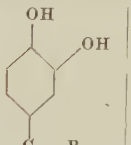
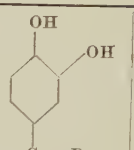
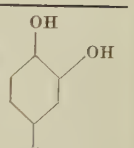
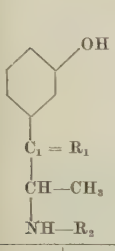
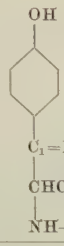
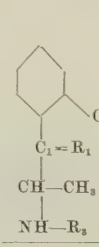
R_2	 $C_1 = R_1$ $C_{(2)} = H_2$ $NH—R_2$		 $C_1 = R_1$ $CH—CH_3$ $NH—R_2$		 $C_1 = R_1$ $CH—C_2H_5$ $NH=R_2$	
	$R_1 = HOH$	$= O$	$= HOH$	$= O$	$= HOH$	$= O$
—H	nor-Adrenalin		Corbasil		Butanefrin	
CH_3	100					
$—CH(CH_3)_2$	300			3		0,3
$—C(CH_3)_3$	450					
$—CH_2—C_6H_5$				0,06		
$—CH(CH_3)—C_6H_5$				0,04		
$—CH_2—CH_2—C_6H_5$	33			1,5		
$—CH(CH_3)—CH_2—C_6H_5$						
$—CH_2—CH_2—CH_2—C_6H_5$	100		75	2,2		
$—CH(CH_3)—CH_2—CH_2—C_6H_5$	300	(1,5)	(20)	3	5	$< 0,2$
$—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—C_6H_5$						
$—CH(CH_3)—CH_2—CH_2—CH_2—C_6H_5$						
$—C(CH_3)_2—CH_2—C_6H_5$				0,15		
$—CH(CH_3)—CH_2—CH_2—C_6H_4—OCH_3$						

Tabelle 1.

									
$C_1 = R_1$ CH—CH_3 NH—R_2		$C_1 = R_1$ $CHCH_3$ NH—R_2		$C_1 = R_1$ CH—CH_3 NH—R_3		$C_1 = R_1$ CH—C_2H_5 NH—R_2		CH_2 CH—CH_3 NH—N_3	CH_3 CH—C_2H_5 NH—R_3
= HOH	= O	= HOH	= O	= HOH	= O	= HOH	= O		
nor-m-Suprifen		nor-p-Suprifen		nor-o-Suprifen		nor-p-Buta-Suprifen		nor-Veritol	nor-Buta-Veritol
		∅						∅	∅
∅ (1,0)	0,2	K (1,0)	K (0,1)						
K (0,04)	∅ (<0,04)	K (0,04)							
∅ (0,02)		∅ (0,02)	∅ (0,005)						
		0,5							
		1,0							
		1,2				0,7		K	
3	0,1	2	<0,1	0,08	<0,005	2	0,1	K	
						0,2	<0,004		
		0,2							
						∅ = unwirksam K = meist konstriktorisch wirksam		∅	
		0,2							

2. Atmungsanaleptische Wirkung.

In unseren Tierversuchen war eine Anregung der Atmung bei intravenöser Applikation der geprüften Stoffe auffällig. Es kommt zu einer Vertiefung und Frequenzzunahme der Atmung. Auch bei Schädigung des Atemzentrums am morphinvergifteten Kaninchen konnten wir diese

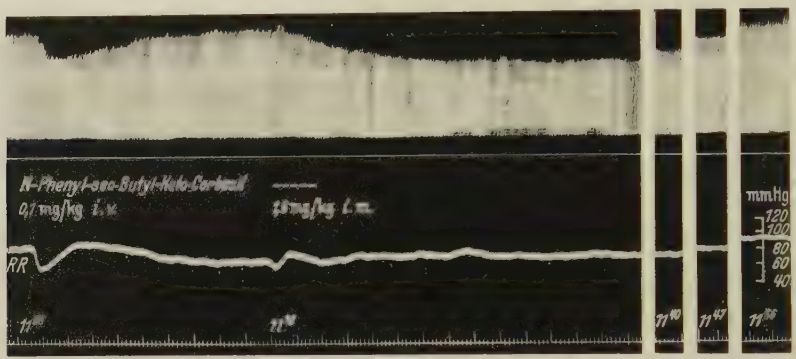


Abb. 3. Vergleich einer intravenösen u. einer intramuskulären Injekt. von N-Phenyl-sec.-Butyl-Keto-Corbasil auf Lungenvolumen und Blutdruck. Das Wirkungsverhältnis ermitteltenwir mit etwa 1 : 10.

Wirkung beobachten. Dieser Effekt, der von uns eingehender untersucht wurde, stellte sich als reflektorisch über die Chemo- oder Pressoreceptoren ausgelöst heraus. Am presso- und chemoreceptorenlosen Hund (Vagotomie und Ausschaltung des Carotissinus beiderseits) konnten wir die atmungsanregende Wirkung der Stoffe nicht mehr feststellen.

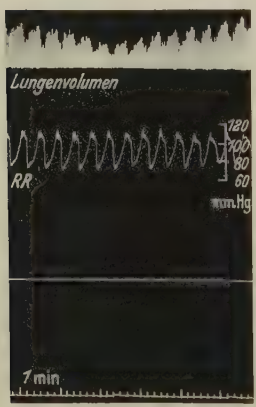


Abb. 4. Synchronisation zwischen Lungentonuswellen und Wellen 3. Ordnung des (stark gedämpften) Blutdrucks.

3. Toxizität.

Wir prüften die Toxizität von Phenyl-sec.-Butyl-Corbasil und der analogen Ketoverbindungen an Mäusen. Für erstere Substanz ermittelten wir eine LD_{50} von 175 mg/kg, während die LD_{50} der entsprechenden Ketoverbindung an der Grenze der Bestimmbarkeit bei ca. 800 mg/kg liegt. Bei den Toxizitätsbestimmungen ließen sich jedoch prinzipielle Unterschiede im Vergiftungsbild der Substanzen erkennen. Während die Tiere der C_1-Alkoholverbindung deutlich eine Übererregbarkeit erkennen ließen und meist unter Krämpfen verendeten, zeigten die Tiere, die mit der Ketoverbindung behandelt waren, Lähmungs- und Adynamiesymptome. Sie waren unfähig, sich auf den Beinen zu halten, „erwachten" beim Aufscheuchen und bewegten sich torkelnd vorwärts. Wir vermuten, daß durch Ersatz der Alkoholgruppe durch

eine Ketogruppe den Verbindungen zusätzlich eine sedative Komponente verliehen wird, wie es für einfache aliphatische Alkohole bekannt ist (Moeller[14]).

Nebenbefunde.

Die Befunde Wicks[19], der eine Abhängigkeit des Bronchialtonus vom CO_2-Gehalt der Atmungsluft beschreibt, können wir bestätigen. In unseren Versuchen mit der Konzett-Rössler-Methode konnten wir die postmortal auftretende Bronchokonstriktion bei weitergehender Beatmung, wie sie von Wick angegeben wird, ebenfalls nachweisen. Weiterhin beobachteten wir häufig, daß die Blutdruckwellen 3. Ordnung synchron gehen mit Änderungen des Lungentonus. War die Blutdruckwelle auf ihrem Maximum, so hatte die Bronchialtonuswelle ihr Minimum erreicht, wie es als Beispiel für diese Verhältnisse aus Abb. 4 zu erkennen ist.

Besprechung der Ergebnisse.

1. Aliphatisch N-substituierte Adrenalinabkömmlinge.

Nach den Literaturangaben ergibt sich bei Verwendung von Arterenol bzw. Adrenalin als Grundkörper die folgende Reihe für die Zunahme der broncholytischen Wirkung durch Abwandlung der Seitenkette am N:

n-Pentyl- n-Propyl- Methyl- n-Butyl- Äthyl-
sec.-Butyl- sec.-Propyl- tert.-Butyl-Arterenol.

Dabei wird für das Isobutyl-derivat eine nicht einheitliche Wirkungsintensität angegeben, was vielleicht durch mangelnde Berücksichtigung der in ihrer Wirksamkeit verschiedenen Isomeren verursacht ist. Bei den übrigen Substanzen dieser Reihe entfällt diese Schwierigkeit.

In der aufgestellten Reihe ist das tert.-Butyl-Derivat, wie schon früher Marsh, Pelletier und Ross[13], Lands u. Mitarb.[8] und kürzlich erst Siderius[17] angeben, die absolut wirksamste Substanz, was den Schluß nahelegt, daß die Intensität der bronchodilatatorischen Wirksamkeit mit der Zunahme der Verzweigungen am N zunimmt.

Auch noch bei den Monooxyderivaten ist bei Verlängerung der Seitenkette am N eine Steigerung der Bronchienwirksamkeit über die des Grundkörpers möglich. Konzett[5] und Lands u. Mitarb.[9] zeigten dies für das N-Isopropyl-m- und -p-1-oxyphenyl-2-aminoäthanol (Sympatolderivat). Daß eine N-Substitution bei den Körpern der Adrenalin-Benzedrinreihe jedoch nicht gesetzmäßig eine Intensivierung der Bronchienwirksamkeit mit sich bringt, berichtet Konzett bereits für das Isopropyl-nor-Ephedrin, das in seinen Versuchen Bronchokonstriktion auslöste.

Während jedoch bei Konzett das Isopropylderivat des m- und p-Sympatols noch broncholytisch wirkte, konnten wir für das m- und p-Isopropyl-nor-Suprifen keine Bronchienwirksamkeit beobachten. Bei diesen Derivaten des Suprifens (1 p-Oxyphenyl-2 Methylamino-1 propanols) sind wir offensichtlich am Umschlagspunkt der Adrenalin-Benzedrinreihe. Wird nun dieses bronchienunwirksame Isopropyl-m-nor-Suprifen in seiner C_1-Ketoform verwandt, so ist eine broncholytische Wirkung eindeutig zu erkennen, die p-Form dieser Verbindung ist jedoch schon unwirksam (Abb. 5). An diesem Punkt der Reihe wird deutlich, daß die C_1-Ketonisierung dem Körper eine zusätzliche broncholytische Tendenz zu geben vermag. Bei Berücksichtigung der schon geschilderten

generellen Verschiebung des Verhältnisses Kreislauf- zu Bronchienwirksamkeit beim Übergang von C_1-Alkohol- zu C_1-Keto-Form zugunsten der broncholytischen Wirksamkeit sind wir wohl berechtigt, vom Falle des Isopropyl-m-nor-Suprifens aus zu verallgemeinern.

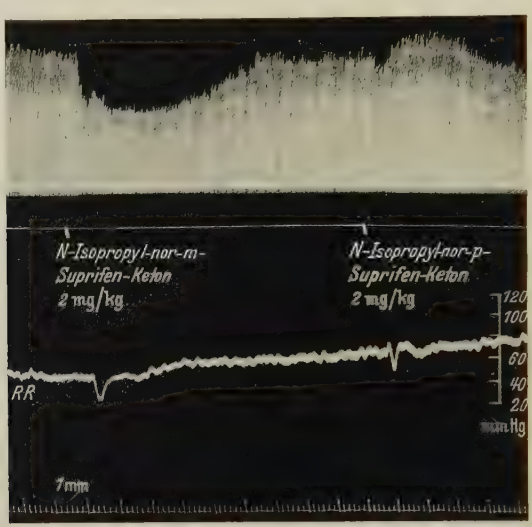


Abb. 5. Vergleich von N-Isopropyl-Derivaten des m- und p-nor-Suprifens. Das Derivat des m-nor-Suprifens ist eindeutig broncholytisch wirksam, während die p-Verbindung leicht konstriktorisch wirkt.

2. Aralkylierte N-substituierte Adrenalinabkömmlinge.

In dieser Reihe ließ sich ebenso ein Optimum der Konfiguration feststellen wie in der aliphatischen Reihe (Tab. 1). Obwohl die Wirkungsstärke der geprüften aralkylierten Körper von der Konstitution des aliphatischen Anteils der Seitenkette abhängt, ließ sich bemerkenswerterweise für die Wirkungsbeziehungen keine durchgehende Parallele zu den rein aliphatisch N-substituierten Substanzen finden. Wir müssen für diese Substanzen eine eigene Reihe mit einem Optimum bei der Phenyl-sec-Butyl-Verbindung aufstellen:

β-Äthyl- Benzyl- α-Äthyl- tert.-Butyl-
n-Butyl- n-Propyl- sec.-Butyl-.

Die absolute Wirksamkeit der geprüften Stoffe ist weiterhin von der Konstitution des Grundkörpers abhängig. Mit schrittweiser Entfernung vom Adrenalin als Grundkörper sehen wir, wie zu erwarten ist, die Wirksamkeit geringer werden. In unserer Tabelle ist der starke Verlust der aralkylierten Substanzen beim Übergang vom Corbasil zum Butanefrin als Grundkörper besonders auffällig. Die relative Wirkungsstärke von Adrenalin zu Butanefrin verhält sich nach Angaben in der Literatur

etwa wie 7—10 : 1, wogegen das Verhältnis der entsprechenden N-Phenyl-sec.-Butyl-Verbindungen nach unseren Beobachtungen etwa 60 : 1 beträgt.

Bei Verwendung von Monooxyderivaten des Adrenalins als Grundkörper ändert sich neben der weiteren Abschwächung der absoluten bronchodilatatorischen Wirkung auch der Wirkungscharakter. Während z. B. die untersuchten Adrenalinderivate einen steilen Eintritt der Wirkung zeigen, ist der Wirkungsverlauf bei den Monooxyderivaten bei der angewandten Methodik ein mehr muldenförmiger. Der Wirkungsunterschied der Monooxyderivate bei verschiedener Stellung der phenolischen OH-Gruppe entspricht den pharmakologischen Erfahrungen (z. B, Schaumann[15], Issekutz[4]), d. h. die m-Stellung ist die wirksamste vor der p-Stellung, während die o-Stellung sehr unwirksam ist.

Weiterhin ist auffällig, daß bei den untersuchten Monooxyderivaten die bronchodilatatorische Wirkung erst auftritt, wenn der aliphatische Anteil der Seitenkette eine gewisse Länge erreicht hat. So sind die N-Benzyl- und die N-Phenyl-β Äthylderivate des m- und p-nor-Suprifens nicht nur bronchodilatatorisch unwirksam, sondern rufen meist zusätzliche Bronchokonstriktion hervor. Wird der aliphatische Anteil der Seitenkette zum Äthyl und darüber hinaus verlängert, so tritt die bronchodilatatorische Wirkung auf. Einem Grundkörper, in unserem Falle dem Suprifen, dem nach eigenen Untersuchungen und Literaturangaben kein bronchodilatatorischer Effekt zukommt, da seine Konstitution offensichtlich zu weit von der des Adrenalins entfernt ist, kann also durch gewisse Aralkylierung diese Fähigkeit wieder verliehen werden. Es ist bemerkenswert, daß das Schwinden der Bronchienwirksamkeit nicht ausschließlich vom Grundkörper abhängt. In unserer Tabelle verläuft die Linie, die die broncholytisch wirksamen Substanzen von den unwirksamen oder bronchokonstriktorischen trennt, nicht senkrecht, d. h. grundkörperabhängig. Ist jedoch, wie im Falle des Veritols, die Entfernung des Grundkörpers vom Adrenalin eine noch größere, so kann auch der Eingriff der Aralkylierung die geschwundene Wirkung nicht mehr hervorbringen.

Für die Adrenalonderivate ist, wenn wir sie neben ihren entsprechenden C_1-Alkohol-Substanzen betrachten, durchgehend eine erhebliche Wirkungsabnahme festzustellen.

Das wichtigste Ergebnis unserer Untersuchung scheint uns das zu sein, daß durch Aralkylierung der Adrenalinderivate eine Steigerung der broncholytischen Wirkung in einem gewissen Rahmen möglich ist und daß weiter durch Ketonisierung eine gewisse Dissoziation zwischen Kreislauf- und Blutdruckwirkung möglich ist. Das Optimum der von uns untersuchten Substanzen liegt bei den N-Phenyl-sec.-Butyl-Derivaten des Adrenalins und Corbasils. Wir haben deshalb diese Substanzen als erste der klinischen Prüfung übergeben.

Zusammenfassung.

Mit der Konzett-Rössler-Methode wird am Histaminbronchospasmus des Hundes die broncholytische Wirksamkeit aliphatisch- und aliphatisch-aromatisch-substituierter Adrenalin- und Adrenalonderivateermittelt.

1. Die wirksamste rein aliphatisch substituierte Substanz war das N-tert.-Butyl-nor-Adrenalin.

2. Die Aralkylierung kann die broncholytische Wirkung eines Grundkörpers verstärken, so daß auch Suprifenderivate broncholytisch wirksam werden, wenn der aliphatische Anteil in der Seitenkette über das Äthyl hinaus verlängert ist. Am wirksamsten erwiesen sich die Phenyl-sec.-Butyl-substituierten Stoffe.

3. Die Adrenalonderivate (C_1-Ketone) zeigen eine bedeutend abgeschwächte Wirkung ihren analogen C_1-Alkohol-Verbindungen gegenüber. Bei diesem Wirkungsverlust ist wesentlich, daß die Kreislaufwirkung durch die Ketonisierung stärker abgeschwächt wird als die Bronchienwirkung. An einer Stelle der Substanzreihe, beim N-Isopropyl-m-nor-Suprifen kann gezeigt werden, daß die C_1-Ketonisierung den Stoffen eine zusätzliche broncholytische Tendenz gibt, da bei diesem Körper nur die Ketoform, nicht der Alkohol broncholytisch wirksam ist.

4. Bei weiterer Entfernung vom Adrenalin, bei Veritolabkömmlingen, sind alle geprüften Stoffe broncholytisch unwirksam oder sogar bronchostriktorisch.

Literatur.

[1] Corrigan, J. R., M. J. Langmann and M. L. Moore: J. Amer. Chem. Soc. **71**, 530 (1949). [2] Fellows, E. J.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **65**, 261 (1947). — [3] Hawkins, D. F., and H. O. Schild: Brit. Med. Assoc. **6**, 682 (1951). — [4] Issekuz, B. v. jun.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **192**, 414 (1939). — [5] Konzett, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 41 (1940/41). — [6] Konzett, H., u. R. Rössler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 71 (1940). — [7] Külz, F., u. M. Schneider: Klin. Wschr. **1950**, 535. — [8] Lands, A. M., V. L. Nash, B. L. Dertinger, H. R. Granger and H. M. MacCarthy: J. of Pharmacol. **92**, 369 (1948). — [9] Lands, A. M., E. E. Richards, V. L. Nash and K. Z. Hooper: J. of Pharmacol. **89**, 297 (1947). — [10] Lands, A. M., F. P. Laduena, J. I. Grant and E. Ananenko: J. of Pharmacol. **99**, 45 (1950). — [11] Launoy, L., et B. Menguy: C. r. Soc. Biol. Paris **87**, 1066 (1922). [12] Lopetz-Botet, E., F. Wyss u. W. Wilbrandt: Helvet. med. Acta **19**, 218 (1952). — [13] Marsh, D. E., M. H. Pelletier and C. A. Ross: J. of Pharmacol. **92**, 108 (1948). — [14] Moeller, K. O.: Pharmakologie als theoretische Grundlage einer rationellen Pharmakotherapie, 3. Aufl., 167. Basel: Benno Schwabe u. Co. — [15] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 127 (1931). — [16] Schneider, M., N. Ludwigs u. E. Bumm: Klin. Wschr. **1952**, 709. — [17] Siderius, P.: Acta physiol. pharmacol. Neerl. **2**, 546 (1951/52). — [18] Siegmund, O. H., N. Beglin and A. M. Lands: J. of Pharmacol. **97**, 14 (1949). — [19] Wick, H.: Arch. internat. Pharmacodynamie **88**, 461 (1951). — [20] Wiemers, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 283 (1951). — [21] Yamauchi, S.: Okayma-Igankkai-Zasshi (jap.) **45**, 857 (1933). — Ber. Physiol. **74**, 760 (1933).

Dr. N. Ludwigs, Inst. für normale u. pathologische Physiologie d. Univ. Köln.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 443—447 (1953).

Aus dem Institut für normale und pathologische Physiologie der Universität Köln (Direktor: Prof. Dr. M. Schneider).

Über die Beziehungen zwischen Hubhöhe und Förderleistung am Froschherzen.

Von

N. Ludwigs.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1953.)

Untersuchungen am Froschherzen zur Wertbestimmung herzaktiver Stoffe nehmen — besonders seit Straub — einen festen Platz in der Reihe unserer pharmakologischen Prüfungsmethoden ein. Dabei wird meist die Spitze des fixierten Froschherzens mit einem Schreibhebel verbunden (Engelmann-Suspension, Straub-Herz) und die „Hubhöhe", d. h. die Längenänderung in der Herzachse während der Herzaktion registriert. Diese Änderung der Herzlängsachse, die Hubhöhe, wird zur Beurteilung der Herz-„leistung" herangezogen, denn man spricht bei Amplitudenänderung der Hubhöhe schlechthin von einer Förderung oder Hemmung des Herzens.

Bülbring beobachtete bereits bei Untersuchungen am durchströmten Froschherzen, daß die Arbeitsleistung durchaus nicht immer aus der Hubhöhe zu ersehen ist und gibt einen Versuch wieder, bei dem eine Förderung des Schlagvolumens mit einer Verkleinerung der Hubhöhe einhergeht. Auch von Wiemers werden Untersuchungsergebnisse angeführt, bei denen sich Schlagvolumen und Hubhöhe invers verhalten.

In den nachfolgend geschilderten Versuchen wurde eingehender zu klären versucht, ob die Hubhöhe gültige Schlüsse auf die Leistung des Herzens zuläßt und welche Beziehungen zwischen diesen Größen bestehen.

Versuche an Winterfröschen. Die von uns verwandte Methodik der Registrierung des Schlagvolumens mit einem Ordinatenschreiber ist von Wiemers eingehender angegeben. Das geförderte Herzvolumen kommt bei dieser Anordnung in Treppchenform zum Ausdruck, wobei jedem Schlagvolumen eine Stufe entspricht. Die Hubhöhe registrierten wir wie üblich durch Suspension an der Herzspitze, wobei der Faden zum Schreibhebel über eine Rolle läuft und das Herz somit nicht aus seiner natürlichen Richtung gebracht wird. Zusätzlich versuchten wir Formänderungen des Herzens dadurch zu erfassen, daß wir das Herz auf ein Photozellenkreuz legten und den Herzschatten im parallelstrahligen Licht in zwei Diametern beobachteten (siehe Skizze in Abb. 2 u. 4).

Steigerung des Schlagvolumens durch Erhöhung des Zuflußdrucks war in unseren Versuchen immer mit einer Abnahme der Hubhöhe verbunden.

Die Hubhöhe war maximal beim Zuflußdruck null, bei dem das suffiziente Herz leerschlägt. Wurde der Vorhofdruck durch Heben des Zuflußgefäßes successive gesteigert, so verkleinerte sich regelmäßig auch stufenweise die Hubhöhe (Abb. 1). Photoelektrisch ließ sich dabei eine Zunahme des queren Herzdurchmessers beobachten (Abb. 2).

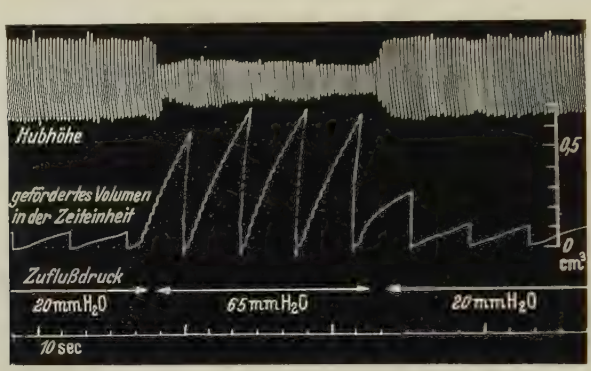


Abb. 1. Der Zuflußdruck zum Herzen wird von 20 mm H_2O auf 65 mm H_2O gesteigert und wieder auf 20 mm H_2O gesenkt. Steigerung des Schlagvolumens geht dabei mit Verkleinerung der Hubhöhe (und umgekehrt) einher.

An diesem Falle der Leistungssteigerung durch Erhöhung des Zuflußdrucks wollen wir die mechanische Beeinflussung des Froschherzens durch die Suspension näher untersuchen: Ist der Zuflußdruck gleich null, so kann das leerschlagende Herz in seiner Längsachse durch

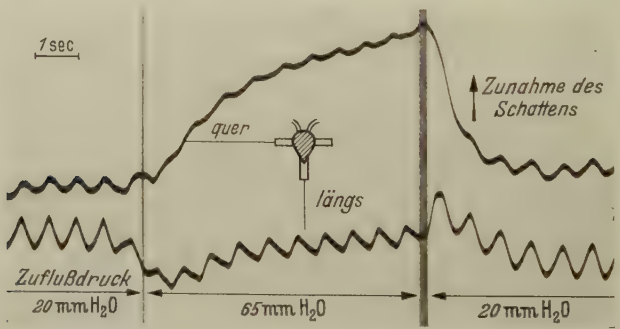


Abb. 2. Herz auf dem Photozellenkreuz. Zwischen den Marken wird der Zuflußdruck wie im Falle der Abb. 1 von 20 mm H_2O auf 65 mm H_2O gesteigert. Der Schatten des queren Durchmessers nimmt dabei zu. In der Längsrichtung verkleinern sich die mit der Herzkontraktion synchron gehenden Ausschläge, d. h. die Hubhöhe nimmt ab wie in Abb. 1. Dabei wird die Mittellinie, um die sich Kontraktion und Erschlaffung abspielen, nahezu unverändert gehalten wie in Abb. 1, wo sich die Hubhöhe vom Fußpunkt und Gipfel her verkleinert.

den Zug des Schreibhebels diastolisch maximal erschlaffen, — die Hubhöhe ist maximal. Es findet bei der Herzaktion ausschließlich eine Formänderung des Herzens ohne jede sonstige Leistung statt. Diese Formänderung fällt im Falle des Zuflußdrucks gleich null ganz in die

Anspannungszeit der Systole. Beim suspendierten Froschherzen tritt im Kontraktionsablauf der Herzaktion eine Änderung der dynamischen Verhältnisse ein dergestalt, daß vor der eigentlich isotonischen Kammerkontraktion nicht nur die isometrische Kontraktion, sondern in dieser Phase der isometrischen Kammerkontraktion bereits eine isotonische gegen den Zug des Registriersystems auftritt, die zunächst die Deformierung in Längsrichtung aufzuheben hat. Entgegen unseren begrifflichen Vorstellungen einer isometrischen Kontraktion ist diese beim suspendierten Froschherzen bereits mit einer Längenänderung verbunden. Die Hubhöhe besteht nun zu einem wechselnden Teil aus dieser artefiziell bedingten Längenänderung während der Anspannungszeit: Schlägt das Herz leer, so besteht sie nur daraus; wächst die Herzleistung, so gibt die Hubhöhe in steigendem Ausmaß die Längenänderung der Herzachse auch während der isotonischen Kammerkontraktion wieder. Bei stärkerer diastolischer Füllung der Kammer wird nun das Ausmaß der diastolischen Erschlaffungsmöglichkeit in Längsrichtung geringer, das Restvolumen steigt an. Hieraus ergibt sich die Verkleinerung der Hubhöhe sowohl vom Fußpunkt als auch vom Gipfel her, wie es die Abb. 1 zeigt. Die photoelektrisch erfaßte quere Herzachse zeigt dieses Verhalten eindeutig (Abb. 2). Nun arbeitet das Herz bei guter Kammerfüllung und hat sich im queren Diameter erheblich verbreitert, gibt also in der Diastole der Längsachse nicht mehr die Möglichkeit der Erschlaffung in anormal starkem Ausmaß.

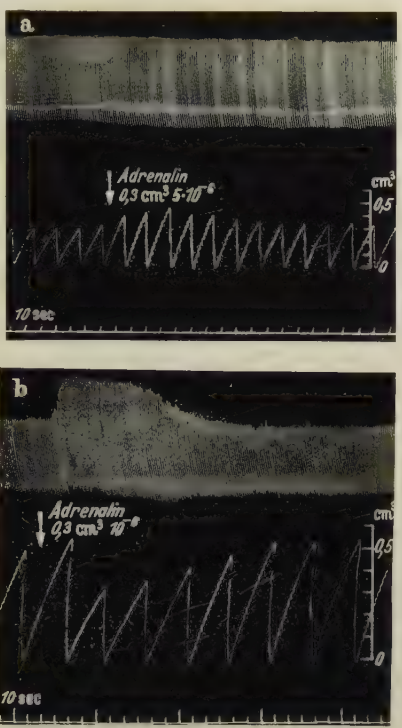


Abb. 3. *a* 0,3 cm³ 5 · 10^{-6} Adrenalin in den Zuführungsschlauch bei einem Zuflußdruck von 50 mm H_2O. Das Schlagvolumen nimmt deutlich zu, die Hubhöhe wird nicht verändert. *b* 0,3 cm³ 10^{-6} Adrenalin in den Zuführungsschlauch bei einem Zuflußdruck von 60 mm H_2O. Amplitudenvergrößerung der Hubhöhe geht eindeutig mit Rückgang des Schlagvolumens einher.

Herzwirksame Pharmaka sind in ihrem Einfluß auf Hubhöhe und Förderleistung nicht einheitlich. Wiemers zeigte, daß das Aconitin eine deutliche Vergrößerung der Hubhöhenamplitude und einen Rückgang der Förderleistung bewirkt. Unter Pernocton werden beide Herzgrößen

gleich beeinflußt: Abnahme der Hubhöhe geht mit verminderter Förderleistung einher. Wir selbst prüften Adrenalin in seiner Beeinflussung von Hubhöhe und Förderleistung. In unseren Versuchen wurde bei deutlicher Steigerung des Schlagvolumens (0,3 cm³ 5 · 10 ⁶ Adrenalin in den Zuführungsschlauch) die Hubhöhe nicht beeinflußt (Abb. 3a). In stärkeren Konzentrationen (0,3 cm³ 10 ⁶ Adrenalin in den Zuführungsschlauch) wurde die Hubhöhe nun eindeutig vergrößert, gleichzeitig nahm aber auch meist das Schlagvolumen ab (Abb. 3b). Photoelektrisch war dabei eine Abnahme des queren Durchmessers zu beobachten, ähnlich der bei Verkleinerung des Zuflußdrucks (Abb. 4).

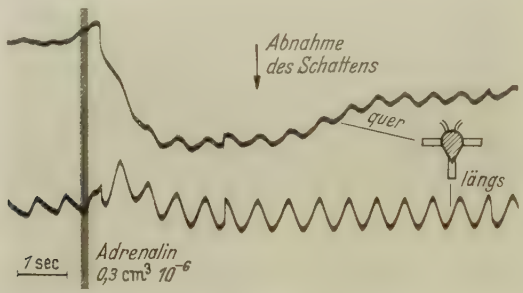


Abb. 4. Bei einem Zuflußdruck von 60 mm H_2O wird 0,3 cm³ 10^{-6} Adrenalin in den Zuflußschlauch gegeben. Wie in Abb. 3b vergrößert sich die Hubhöhe, denn die Kontraktionsschwankungen im Längsdurchmesser nehmen zu. Der quere Herzdurchmesser nimmt ab, ähnlich wie bei Senkung des Zuflußdrucks in Abb. 2.

Setzen wir Hubhöhe und Förderleistung in Beziehung zueinander, so sehen wir in unseren Versuchen sowohl bei Leistungsabnahme durch Zuflußdruckänderung als auch unter Adrenalin eine Steigerung der Hubhöhe mit einer Schlagvolumenabnahme einhergehen. Bei herzaktiven Stoffen können jedoch auch andere Kombinationen eintreten: Abnahme der Hubhöhe mit Verkleinerung des Schlagvolumens (z. B. Pernocton); Förderung der Hubhöhe uud Schlagvolumenvergrößerung (Wiemers: N-Phenyl-sec.-butyl-nor-Adrenalin).

Die Hubhöhe ist eine Größe, die in vielen Fällen keine Schlüsse auf die Förderleistung zuläßt. Die verschiedene Beeinflussung von Hubhöhe und Förderleistung — teils gleichsinnig, teils invers — durch herzaktive Stoffe kann nicht ausschließlich durch einen Artefakt durch den mechanischen Einfluß des Registriersystems zustande kommen, wie es für den Fall der Zuflußdruckänderung zum Herzen näher erörtert wurde, denn dieser Einfluß ist ein gleichbleibender. Vielmehr müssen den herzwirksamen Stoffen noch andere Wirkungen zukommen, die sich unabhängig von der Beeinflussung der Förderleistung im Tonus und im Kontraktionsablauf — in der Hubhöhe — äußern.

Zusammenfassung.

Beim durchströmten Froschherzen verhalten sich Hubhöhe und Schlagvolumen in vielen Fällen invers. Für den Fall der Steigerung der Förderleistung durch Erhöhung des Zuflußdrucks, bei dem die Amplitude der Hubhöhe regelmäßig abnimmt, wird die Beeinflussung der Herzdynamik durch das Registriersystem zu klären versucht. Bei der Zunahme des Schlagvolumens, die mit Amplitudenverkleinerung einhergeht, ist photoelektrisch eine Vergrößerung des queren Herzdurchmessers festzustellen.

Herzwirksame Pharmaka beeinflussen Hubhöhe und Schlagvolumen verschieden, teils invers. Geht Vergrößerung der Hubhöhe mit Rückgang des Schlagvolumens einher (größere Adrenalingaben), so wird der quere Herzdurchmesser verkleinert gefunden.

Aus der Hubhöhe des Froschherzens ist nicht ohne weiteres auf eine gesteigerte Leistung zu schließen.

Literatur.

Bülbring, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 257 (1930). — Wiemers, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 335 (1951).

Dr. N. Ludwigs, Inst. für normale u. pathologische Physiologie d. Univ. Köln.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 448—456 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. Brücke).

Die Polyphenoloxydase des menschlichen Blutserums.

Von
O. Hornykiewicz und G. Niebauer.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1953.)

Die Schwankungen des Serumkupferspiegels, die unter gewissen physiologischen und pathologischen Bedingungen mit großer Regelmäßigkeit auftreten, lassen vermuten, daß diesem Spurenelement offenbar eine biologische Bedeutung für den Organismus zukommen könnte[7]. Anhaltspunkte über den Wirkungsmechanismus des Kupfers sind jedoch sehr spärlich.

1944 fand Holmberg[8], daß die P_I-Fraktion des menschlichen Serums eine „laccaseähnliche Aktivität" entfaltet. Er konnte auch feststellen, daß die Aktivität dieser Fraktion ungefähr ihrem Kupfergehalt parallel ging. Dieser Befund bildete den Auftakt zu sorgfältigen Untersuchungen über das Problem des Serumkupfers durch Holmberg und Laurell. Sie konnten zeigen, daß nahezu das gesamte Serumkupfer an ein spezifisches α-Globulin gebunden ist[9] *. Nach Isolierung dieses Proteins[10], welches sie Coeruloplasmin nannten, gelang ihnen der Nachweis, daß dieses Kupferproteid, das ein Molekulargewicht von 151000 hatte und 8 Atome Kupfer pro Molekül enthielt, im Gegensatz zu dem Hämocuprein von Mann und Keilin[19], enzymatisch wirksam ist[11]. Die enzymatische Aktivität konnte auf Grund der Substratspezifität und des Verhaltens gegenüber CO als die einer Laccase charakterisiert werden.

Weiter konnten Holmberg und Laurell zeigen, daß zwischen den Schwankungen der Kupferwerte im Serum, wie sie unter physiologischen und pathologischen Bedingungen auftreten, und der oxydatischen Fähigkeit des Serums gegenüber p-Phenylendiamin eine ziemlich gute Korrelation besteht[12].

Andererseits berichtete Shacter[25] über das Vorkommen einer spezifisch auf das Brenzkatechin eingestellten „Katecholoxydase" im menschlichen Serum, als deren Wirkungsgruppe ebenfalls Kupfer angenommen wurde. Der Autor konnte für dieses Ferment jedoch keinerlei Schwankungen während verschiedener Erkrankungen feststellen. Geringe Schwankungen der Aktivität erklärte er durch die fallweise Anwesenheit eines Hemmkörpers.

Vor kurzem haben wir über eine Polyphenoloxydase im menschlichen Blutserum und über ihr Verhalten während der Schwangerschaft und beim Neugeborenen berichtet[4, 5].

* Aus Untersuchungen, die sich auf den Coeruloplasmingehalt von Seren Wilson-kranker (hepatolenticuläres Syndrom) bezogen, glauben allerdings Scheinberg und Gitlin[22] folgern zu können, daß bei Coeruloplasminmangel das Kupfer auch von anderen Serumproteinen gebunden wird.

Nachfolgend soll die Natur dieses Fermentes näher charakterisiert und der Zusammenhang mit bereits im menschlichen Serum beschriebenen Kupferfermenten diskutiert werden.

Methodik.

Die verwendeten Seren wurden aus dem Venenblut hochschwangerer Frauen gewonnen. Vor der Bestimmung ihrer Fermentaktivität wurden sie durch vorsichtiges Ansäuern mit HCl „neutralisiert" (nach Mc Leod und Rhoads[18]).

Die verwendeten Substrate wurden im Phosphatpuffer (nach Sörensen) vom entsprechenden p_H gelöst.

Die Bestimmung der Fermentaktivität der Seren wurde manometrisch am O_2-Verbrauch in der Warburg-Apparatur gemessen. Es wurden 0,3 ml der entsprechenden Substratlösung in die Ansatzbirne einpipettiert; der Hauptraum der Manometergefäße enthielt 0,5 ml Serum und 1,2 ml Phosphatpuffer. Das p_H des Puffers wurde so gewählt, daß das Serum-Substrat-Puffergemisch dem bei jedem Versuch angegebenen p_H entsprach.

Die bei einigen Versuchen verwendeten hemmenden bzw. aktivierenden Substanzen wurden ebenfalls im Phosphatpuffer gelöst und 0,2 ml dieser Lösung in den Hauptraum gegeben. Um das Gesamtreaktionsvolumen auf 2,0 ml zu halten, wurde in diesen Fällen statt 1,2 ml entsprechend weniger Pufferlösung hinzugefügt.

Zum Zwecke der CO_2-Absorption wurde in die Zentralgefäße je 0,2 ml 10%ige Kalilauge und Filterpapierstreifen gegeben.

Vor Beginn der enzymatischen Reaktion wurde das ganze System 30 min lang geschüttelt (Wasserbadtemperatur 36° C). Nach dieser Zeit wurden die Nullzeitwerte abgelesen und das Substrat aus der Ansatzbirne in den Hauptraum gekippt.

Die Ablesung des O_2-Verbrauches erfolgte alle 10 min.

Die Messung des p_H im Reaktionsgemisch wurde mit dem Ionometer nach Lautenschläger durchgeführt.

Ergebnisse.

1. Oxydation von Polyphenolen durch das menschliche Blutserum (Substratspezifität).

In einer früheren Mitteilung haben wir die oxydierende Wirkung der Polyphenoloxydase des Serums an Brenzkatechin, Dioxyphenylalanin, Pyrogallol und Adrenalin als Substrat beschrieben[4]. Um entscheiden zu können, ob dieses Ferment in die Gruppe der o-Polyphenoloxydasen oder der p-Polyphenoloxydasen einzuordnen ist, haben wir außerdem folgende Substrate untersucht: p-Kresol, Tyrosin, Hydrochinon, p-Phenylendiamin und Ascorbinsäure.

Wie aus der Abb. 1 ersichtlich, wird von allen untersuchten Substanzen das p-Phenylendiamin durch das Serum am stärksten oxydiert. Das Substratoptimum liegt unter den angegebenen Versuchsbedingungen bei 4,0 mg p-Phenylendiamin pro 2,0 ml Reaktionsgemisch. Sowohl mit höheren als auch mit geringeren Substratmengen sinkt die O_2-Aufnahme stark ab. Ein ähnliches Verhalten konnten wir mit anderen Substraten nicht beobachten. Der Vorteil des p-Phenylendiamins zur Bestimmung der Aktivität der Polyphenoloxydase des Serums liegt auch darin, daß

die Autooxydation dieses Substrates bei dem in unseren Versuchen eingehaltenen p_H von 6,2 sehr gering ist (5 μl O_2/Std).

Auch die enzymatische Oxydation des Pyrogallols wird durch das Serum stark beschleunigt; seine Autooxydation ist jedoch stärker als die des p-Phenylendiamins.

Viel schwächer werden durch das Serum Hydrochinon, Brezkatechin und Adrenalin oxydiert. Serum besitzt gegenüber diesen Substraten eine 4mal schwächere enzymatische Aktivität (gemessen am O_2-Verbrauch/Std) als gegenüber p-Phenylendiamin. Von allen untersuchten Diphenolen wird Dioxyphenylalanin am langsamsten oxydiert.

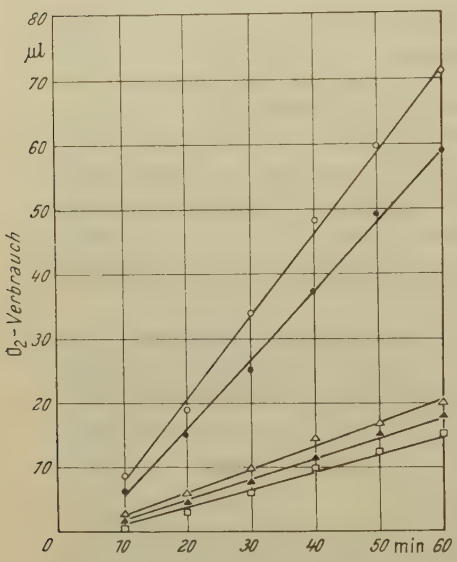


Abb. 1. Oxydation einiger Polyphenole durch menschliches Blutserum. ○ p-Phenylendiamin (Hydrochlorid), 4 mg, p_H 6,2; • Pyrogallol, 4 mg, p_H 6,9; △ Brenzkatechin, 10 mg, p_H 5,9; ▲ Hydrochinon, 4 mg, p_H 6,5; □ Adrenalin (als Bitartrat), 7 mg, p_H 6,8. Zur Kontrolle wurde jeweils die Autooxydation des betreffenden Substrates im angegebenen p_H mitbestimmt. Der dabei gemessene O_2-Verbrauch wurde von der enzymatischen Reaktion immer abgezogen.

Überhaupt nicht angegriffen werden die Monophenole p-Kresol und Tyrosin. Auch die Oxydation von Ascorbinsäure ließ sich durch Serum nicht über das Maß der Autooxydation steigern.

2. Enzymatische Natur des polyphenoloxydierenden Serumfaktors.

Zuerst konnten wir feststellen, daß selbst nach langdauernder Dialyse des Serums (4 Tage lang) gegen Aqua dest. oder physiologische Kochsalzlösung die Aktivität den erwähnten Substraten gegenüber unverändert bleibt. Daraus geht hervor, daß der die Polyphenole oxydierende Faktor nicht dialysabel ist.

Dagegen konnte durch 10 min langes Erhitzen des Serums auf 70° C seine Aktivität fast völlig zerstört werden (Abb. 2). Auch durch Ansäuern auf ein p_H von 3,5 mit 3%iger HCl und nachfolgendes Neutralisieren mit verdünnter NaOH verlor das Serum seine oxydativen Fähigkeiten.

Weiter zeigt die Oxydation des p-Phenylendiamins durch das Serum ein ausgeprägtes p_H-Optimum zwischen p_H 5,5 und 6,5 (Abb. 3); sowohl in alkalischem als auch in stärker saurem Milieu nimmt die Aktivität des Serums ab.

Alle diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß es sich bei dem polyphenoloxydierenden Faktor des Serums um ein Ferment mit einer nicht dialysablen Wirkungsgruppe handelt.

3. Kupfer als Wirkungsgruppe der Serumpolyphenoloxydase.

Auf Grund der Substratspezifität der Serumoxydase konnte dieses Ferment in die Gruppe der Polyphenoloxydasen eingereiht werden. Alle bis jetzt bekannten Polyphenoloxydasen enthalten Kupfer als prosthetische Gruppe. Wir haben untersucht, ob das gleiche auch für die Polyphenoloxydase des Serums gilt. Zuerst wurde festgestellt, daß die Wirkungsgruppe dieses Fermentes tatsächlich ein Schwermetall sein mußte. Die Reaktion zwischen Serum und p-Phenylendiamin wurde nämlich durch eine 1×10^{-3} Mol KCN-Lösung völlig gehemmt (Abb. 4); Natriumacid, ein ebenfalls sehr wirksamer Schwermetallbinder, konnte die Fermentaktivität des Serums zu ca. 50% noch in einer Konzentration von 5×10^{-5} Mol hemmen.

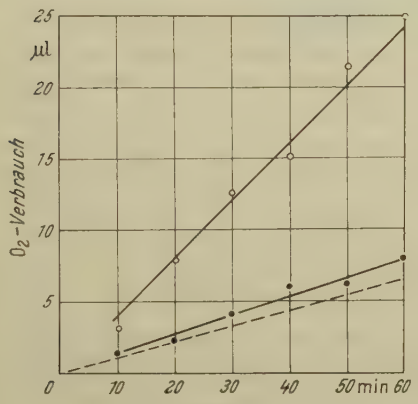


Abb. 2.

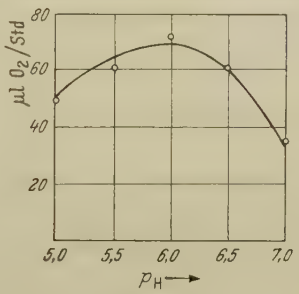


Abb. 3.

Abb. 2. Inaktivierung des Serums durch Erhitzen. Substrat: Brenzkatechin, 10 mg, p_H 5,9. o Oxydation des Brenzkatechins durch nicht erhitztes Serum. • Oxydation des Brenzkatechins durch Serum, das 10 min lang auf 70° C erhitzt worden war. --- Autooxydation des Brenzkatechins bei p_H 5,9.

Abb. 3. Die Abhängigkeit der Oxydation des p-Phanylendiamins (4 mg des Hydrochlorids) durch Serum vom p_H.

Wie aus Abb. 4 weiter hervorgeht, konnte die Fermentaktivität auch durch Natriumdiäthyldithiocarbaminat, einen recht spezifischen Kupferkomplexbildner gehemmt werden; eine 5×10^{-4} Mol Lösung führte zu einer 30%igen Hemmung der Fermentaktivität. Als stark hemmend erwies sich auch das ebenfalls kupferbindende Cystein, das in einer 1×10^{-3} Mol Konzentration eine $^2/_3$ Hemmung bewirkte. α-Naphthylthioharnstoff, der als ein starker Hemmkörper der Kartoffelpolyphenoloxydase bekannt ist, führte in einer Konzentration von $6{,}5 \times 10^{-4}$ Mol eine 50%ige Hemmung herbei.

Diese Hemmversuche allein machen die Kupfernatur der Wirkungsgruppe der Serumpolyphenoloxydase wahrscheinlich.

Auffällig war bei den Versuchen das Verhalten von Hemmstoffen wie Diäthyldithiocarbaminat und Methylthiourazil bei Verwendung von Brenzkatechin als

Substrat. Es wurde nämlich zwar das Auftreten des bei der Oxydation des Brenzkatechins entstehenden roten Farbstoffes ca. 15 min lang verhindert, die Sauerstoffaufnahme, gemessen in der Warburg-Apparatur, konnte dagegen mit mittleren Konzentrationen dieser Hemmstoffe nicht herabgesetzt werden.

Das läßt sich vielleicht durch die Annahme erklären, daß durch die Reaktion Brenzkatechin ⇌ o-Benzochinon die für die Hemmung verantwortlichen SH-Gruppen der Hemmstoffe zu den unwirksamen -S-S-Verbindungen oxydiert werden, unter gleichzeitiger Reduktion des o-Chinons zu Brenzkatechin.

Dieser Reaktionsmechanismus würde sowohl die anfängliche Hemmung der Farbentwicklung (= ständige Reduktion des o-Chinons zu Brenzkatechin), als auch die Nichthemmbarkeit der O_2-Aufnahme in der Warburg-Apparatur erklären.

Bemerkt sei noch, daß hohe Konzentrationen von Natriumdiäthyldithiocarbaminat (1×10^{-2} m) auch die Oxydation des Brenzkatechins völlig hemmen.

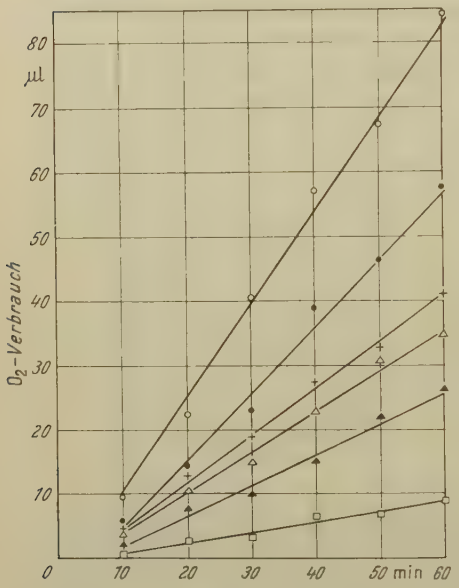


Abb. 4.

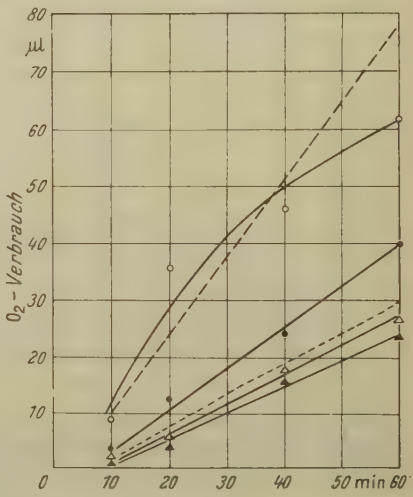


Abb. 5.

Abb. 4. Hemmung der Serumoxydase durch einige Schwermetallkomplexbildner. Substrat: p-Phenylendiamin-HCl, 4 mg. ○ Serum + p-Phenylendiamin, keine Hemmsubstanz, p_H 6,2. Hemmung durch: • Natriumdiäthyldithiocarbaminat, 5×10^{-4} m. + α-Naphthylthioharnstoff, $6{,}5 \times 10^{-4}$ m. △ Natriumazid, 5×10^{-5} m. ▲ Cystein, 1×10^{-3} m. □ Kaliumzyanid, 1×10^{-3} m.

Abb. 5. Beeinflussung der Natriumazidhemmung durch einige Schwermetalle. ——— Oxydation des p-Phenylendiamin-HCl durch Serum (ohne Natriumazid), p_H 6,2. --- Hemmung dieser Reaktion durch Natriumazid, 5×10^{-5} m. Beeinflussung dieser Hemmung durch: ○ $CuCl_2$, 1×10^{-3} m. • $CoCl_2$, 1×10^{-3} m. △ $FeCl_3$, 1×10^{-3} m. ▲ $MnCl_2$, 1×10^{-3} m. Die Autooxydation des p-Phenylendiamins wurde durch die angegebenen Mengen der Schwermetallionen in verschieden starkem Maße gesteigert. Diese Werte wurden vom Gesamtsauerstoffverbrauch in Abzug gebracht.

Weiter wurde der Einfluß einiger Schwermatallionen auf die durch Natriumacid gehemmte Polyphenoloxydase des Serums geprüft.

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, wurde durch Zusatz von Kupferionen eine 60%ige NaN_3-Hemmung der Fermentaktivität zu $^2/_3$ aufgehoben. Kobaltionen zeigten eine viel schwächere aktivierende Wirkung, während Eisen- und Manganionen völlig unwirksam waren bzw. die NaN_3-Hemmung eher verstärkten.

Das Fermentkupfer ist offenbar sehr fest an das Fermenteiweiß gebunden. Dialyse gegen $^1/_{100}$ Mol KCN-Lösung (6—12 Std) und anschließend gegen Aqua dest. (4 Tage lang) — ein Vorgang, durch den das Fermentkupfer aus den pflanzlichen Polyphenoloxydasen abgespalten und das Ferment reversibel inaktiviert werden kann[17] — ändert nichts an der Aktivität des Serums gegenüber den untersuchten Polyphenolen. Auch durch Dialyse gegen Natriumdiäthyldithiocarbaminat und anschließend gegen Aqua dest. konnte das Fermentkupfer von der Eiweißkomponente nicht abgespalten werden.

4. Charakterisierung des beschriebenen Fermentes als eine p-Polyphenoloxydase.

Das Verhalten einer Polyphenoloxydase gegenüber Kohlenoxyd ist, neben der Substratspezifität, für die Zuordnung des Fermentes zum ortho- bzw. para-Typus der Polyphenoloxydasen von prinzipieller Bedeutung[21]. Die o-Polyphenoloxydasen werden durch Kohlenoxyd energisch gehemmt; diese Hemmung ist lichtunempfindlich[13, 16]. Andererseits wird die Laccase, die einer p-Polyphenoloxydase entspricht, durch CO nicht gehemmt[14].

Für die Polyphenoloxydase des Serums fanden wir, daß sie durch Kohlenoxyd in keiner Weise gehemmt wird.

Auf Grund dieses Verhaltens einerseits und der Substratspezifität — Oxydation der p- als auch der o-Diphenole — andererseits, kann die Polyphenoloxydase des Serums zu dem *para*-Polyphenoloxydasetypus gerechnet werden.

5. Endogene Hemmstoffe.

Im menschlichen Blute finden sich SH-Gruppen führende Stoffe wie Cystein und Glutathion, die bekanntlich durch Blockierung des Fermentkupfers die Polyphenoloxydaseaktivität hemmen können.

Da die erwähnten Substanzen durch sogenannte Sulfhydrilreagentien wie p-Chlorquecksilberbenzoat, Jodacetat und andere inaktiviert werden, können diese eine Fermentblockierung durch SH-Gruppen aufheben.

In einem entsprechenden Versuch mit p-Chlorquecksilberbenzoat (1×10^{-3} Mol.) konnten wir jedoch nur eine geringe Verstärkung der p-Polyphenoloxydaseaktivität des Serums beobachten.

Es ist übrigens auch unwahrscheinlich, daß bei Verwendung der erwähnten Substratmengen die SH-Gruppen des Serums eine effektvolle Hemmung des Fermentes entfalten können, da sie durch die bei der enzymatischen Reaktion entstehenden Chinone, die ja sehr kräftige Oxydationsmittel sind, rasch zu den entsprechenden inaktiven Disulfidverbindungen oxydiert werden. Diese Überlegungen gelten natürlich nur für die Verhältnisse in vitro und schließen eine Hemmwirkung der SH-Gruppen des Serums in vivo in keiner Weise aus.

Diskussion.

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, daß im menschlichen Blutserum eine Polyphenoloxydase vorkommt, deren Wirkungsgruppe Kupfer ist.

Für die Einteilung der Polyphenoloxydasen ist sowohl ihre Substratspezifität als auch ihr Verhalten gegenüber Kohlenoxyd maßgebend. Danach wird zwischen ortho- und para-Polyphenoloxydasen unterschieden[21].

Die o-Polyphenoloxydasen oxydieren neben Pyrogallol nur o-Diphenole wie Brenzkatechin, Dioxyphenylalanin, Adrenalin und andere; p-Diphenole wie Hydrochinon oder p-Phenylendiamin werden kaum angegriffen*.

Demgegenüber ist die Substratspezifität der p-Polyphenoloxydasen recht weit. Es werden sowohl o- als auch p-Diphenole oxydiert, wobei jedoch die Oxydation der p-Diphenole besonders stark katalysiert wird. Das beste Substrat für die p-Polyphenoloxydasen ist in vitro das p-Phenylendiamin, das mindestens doppelt so stark oxydiert wird wie das Brenzkatechin.

Durch Kohlenoxyd werden die o-Polyphenoloxydasen stark gehemmt; diese Hemmung ist lichtunempfindlich. Im Gegensatz dazu wird die Aktivität der p-Polyphenoloxydasen durch Kohlenoxyd nicht gehemmt.

Gleichsinnig in ihrem Verhalten sind dagegen die beiden Fermentgruppen gegenüber den Schwermetallkomplexbildnern. Die Aktivität sowohl der o- als auch der p-Polyphenoloxydasen wird durch Substanzen wie Blausäure, Natriumazid, und Natriumdiäthyldithiocarbaminat gehemmt.

Das im menschlichen Blutserum beschriebene Kupferferment katalysiert die Oxydation sowohl der o- als auch der p-Diphenole, am stärksten p-Phenylendiamin. Seine Aktivität wird durch KCN, NaN_3, Diäthyldithiocarbaminat, Cystein und α-Naphthylthioharnstoff gehemmt, durch Kohlenoxyd nicht. Alle diese Charakteristica lassen das beschriebene Ferment als eine *para-Polyphenoloxydase* erscheinen.

Das Vorkommen von p-Polyphenoloxydasen im Pflanzenreich ist schon seit langem bekannt[27]. Sie werden als Laccasen bezeichnet, da sie hauptsächlich aus dem Milchsaft verschiedener Lackbaumarten gewonnen werden.

Keilin und Mann[14] haben festgestellt, daß die Laccase des indochinesischen Lackbaumes Rhus succedanea ein durch Kohlenoxyd nicht hemmbares Kupferferment ist. Demgegenüber steht die Behauptung Bertrands[2], daß die Wirkungsgruppe der Laccase Mangan sei. Solange diese prinzipielle Frage noch nicht endgültig entschieden ist, scheint es besser, die Bezeichnung Laccase für das im Serum beschriebene Kupferferment nicht anzuwenden.

Shacter[25] hat vor kurzem über das Vorkommen eines Fermentes im menschlichen Blutserum berichtet, das lediglich imstande ist Brenzkatechin, nicht aber andere Diphenole wie Adrenalin, Dioxyphenylalanin oder Hydrochinon zu oxydieren. Die Oxydation des p-Phenylendiamins als Substrat hat der Autor nicht untersucht. Diese negativen Resultate lassen sich vielleicht auf die ungünstigen Versuchsbedingungen, die Shacter eingehalten hat, zurückführen.

Viele Befunde sprechen dafür, daß die p-Polyphenoloxydase des Serums mit dem enzymatisch wirksamen Coeruloplasmin von Holmberg und Laurell[9, 10, 11] identisch sein dürfte.

---

* Hydrochinon wird in nennenswerter Weise nur nach Zugabe von katalytischen Mengen von Brenzkatechin oxydiert. Diese Oxydation des Hydrochinons stellt jedoch keinen primär enzymatischen Vorgang dar, sondern wird durch den Wechsel Diphenol ⇋ Chinon des zugesetzten Brenzkatechins bewirkt[26]. Darüber, ob die o-Polyphenoloxydasen imstande sind Monophenole (p-Kresol, Tyrosin) zu oxydieren, oder ob vielleicht auch dieser Vorgang sekundärer Natur ist, gehen die Meinungen auseinander[15, 20].

Bekanntlich ist während der Schwangerschaft der Serumkupferspiegel erhöht[24]. Es ist naheliegend anzunehmen, daß die von uns beobachtete progrediente Zunahme der Polyphenoloxydase im Verlaufe der Schwangerschaft[4] damit im Zusammenhang steht. Allerdings ist die Frage, ob alles Kupfer des Coeruloplasmins (= Gesamtserumkupfer) oder nur ein Teil davon für die enzymatischen Leistungen dieses Proteins verantwortlich ist, noch nicht überzeugend dargelegt worden.

Experimentell gesichert ist die Bedeutung des Kupfers für die Hämatopoese[6]. Ob es sich dabei um eine Wirkung der p-Polyphenoloxydase oder um einen nicht enzymatischen Vorgang handelt, ist ebenfalls nicht untersucht.

Auffällig ist, daß sich die recht weite Substratspezifität der p-Polyphenoloxydase, soweit es sich um den Angriff phenolischer Substanzen handelt, mit der der Cytochromoxydase weitgehend deckt[21]. Bemerkenswert ist die Angabe, daß bei experimentellem Kupfermangel eine Abnahme der Cytochromoxydaseaktivität der Gewebe gefunden wurde[23]. Über Wechselwirkungen zwischen dem Cytochrom-Cytochromoxydasesystem und der p-Polyphenoloxydase ist bis jetzt jedoch nichts bekannt.

Es wird in der Literatur vielfach die Möglichkeit diskutiert, daß der Abbau des Adrenalins, zumindest zum Teil, über das Oxydationsprodukt Adrenochrom verläuft[1]. Diese Oxydationsreaktion kann sowohl durch das in den Geweben fast ubiquitäre Cytochrom-Cytochromoxydasesystem als auch durch die Polyphenoloxydasen katalysiert werden. Es wurden allerdings Zweifel daran geäußert, ob die Cytochromoxydase auch in vivo imstande ist das Adrenalin zu oxydieren[3].

Wie wir feststellen konnten, wird das Adrenalin durch die p-Polyphenoloxydase des Serums in vitro unter Bildung eines roten Farbstoffes oxydiert. Da die p-Polyphenoloxydaseaktivität des Serums während der Schwangerschaft stark erhöht ist, wird Adrenalin vom Schwangerenserum in vitro ebenfalls stärker oxydiert.

Ob dem Serum schwangerer Frauen auch im Organismus die Fähigkeit zukommt, Adrenalin in erhöhtem Maße oxydativ zu inaktivieren, ist unbekannt. Hier bietet sich vielleicht die Möglichkeit durch entsprechende Untersuchungen die biologische Bedeutung dieses Fermentes zu erkennen.

Zusammenfassung.

1. Es wird über das Vorkommen eines Kupferfermentes im menschlichen Blutserum berichtet.

2. Auf Grund seiner Substratspezifität und seines Verhaltens gegenüber Hemmstoffen wird dieses Ferment als eine p-Polyphenoloxydase charakterisiert.

3. Der Zusammenhang mit anderen im menschlichen Blutserum beschriebenen Kupferfermenten wird diskutiert.

Literatur.

[1] Bacq, Z. M.: Pharmacol. Rev., Baltimore **1**, 1 (1949). — [2] Bertrand, D.: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **26**, 45 (1944). — [3] Beyer, K. H., and Shapiro, S. H.: Amer. J. Physiol. **144**, 321 (1945). — [4] Elsner, P., O. Hornykiewicz, A. Lindner, u. G. Niebauer: Wien. klin. Wschr. **65**, 193 (1953). — [5] Elsner, P., O. Hornykiewicz, A. Lindner u. G. Niebauer: im Druck. — [6] Elvejhem, C. A.: Physiologic. Rev.

15, 471 (1935). — Cartwright, G. E., and M. M. Wintrobe: J. of Biol. Chem. **176**, 571 (1948). — [7] Heilmeyer, L., W. Keiderling u. G. Stüwe: Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe und ihre Bedeutung beim Krankheitsgeschehen. Jena 1941. — [8] Holmberg, C. G.: Acta physiol. Scand. **8**, 227 (1944). — [9] Holmberg, C. G., u. C.-B. Laurell: Acta chem. Scand. **1**, 944 (1947). — [10] Holmberg, C. G., u. C.-B. Laurell: Acta chem. Scand. **2**, 550 (1948). — [11] Holmberg, C. G., u. C.-B. Laurell: Acta chem. Scand. **5**, 476 (1951). — [12] Holmberg, C. G., u. C.-B. Laurell: Scand. J. Clin. Laborat. Invest. **3**, 103 (1951). — [13] Keilin, D.: Proc. Roy. Soc. Lond. (B) **104**, 206 (1929). — [14] Keilin, D., and T. Mann: Nature (Lond.) **143**, 23 (1939). — [15] Kertesz, D.: Biochim. Biophys. Acta N. Y. **9**, 170 (1952). — [16] Kubowitz, F.: Biochem. Z. **292**, 221 (1937). — [17] Kubowitz, F.: Biochem. Z. **299**, 32 (1938). — [18] Mc Leod, J., and C. P. Rhoads: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **41**, 268 (1939). — [19] Mann, T., and D. Keilin: Proc. Roy. Soc. Lond. (B) **126**, 303 (1938). — [20] Nelson, J. M., and C. R. Dawson, Advances Enzymol. N. Y. **4**, 99 (1944). — [21] Nord-Weidenhagen: Handbuch d. Enzymologie 1940, Bd. II, 737ff. — [22] Scheinberg, H., and D. Gitlin: Science (Lancaster, Pa.) **116**, 484 (1952). — [23] Schulze, M. D.: J. of Biol. Chem. **129**, 729 (1939). — Darby, W. J.: J. Amer. Med. Assoc. **142**, 1288 (1950). — [24] Segschneider, P.: Z. Geburtsh. **130**, 142 (1949). — [25] Shacter, B.: J. of Biol. Chem. **184**, 697 (1950). — [26] Warburg, O.: Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten 1948, 153. — [27] Yoshida, H.: J. Chem. Soc. Lond. **43**, 472 (1883). — Bertrand, G.: Compt. rend. **118**. 1215 (1894).

Dr. O. Hornykiewicz, Pharmakol. Inst. d. Univ. Wien.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 457—461 (1953).

Aus dem Physiologischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Schriever).

Automatischer Sekretionsmesser für fortlaufende Registrierung.

Von

Otto Harth, Rudolf Köhler und Walter Kreienberg.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Februar 1953.)

Zur Messung und Registrierung von Nieren- und Gallensekretion stehen eine Reihe von Verfahren zur Verfügung. Die meisten beruhen auf dem Prinzip der Tropfenzählung[1–5, 7, 8, 9, 11]. Weigmann und Hampel[10] dagegen lassen durch das Sekret eine gefärbte Flüssigkeit vor einer Photozelle verschieben und registrieren die Änderungen des Photostromes, während der Sekretionsmesser von Robbers und Hampel[6] die Druckzunahme der vom Sekret verdrängten Luft mit einer Frankschen Kapsel mißt. Alle diese Verfahren weisen Nachteile auf. So registrieren die Tropfenzähler nur die Zahl und nicht die Größe der Tropfen, die bei Änderungen von Oberflächenspannung, spez. Gewicht und Temperatur stark variieren kann. Die Geräte von Hampel u. Mitarb. müssen bei einer fortlaufenden Registrierung immer wieder manuell entleert werden.

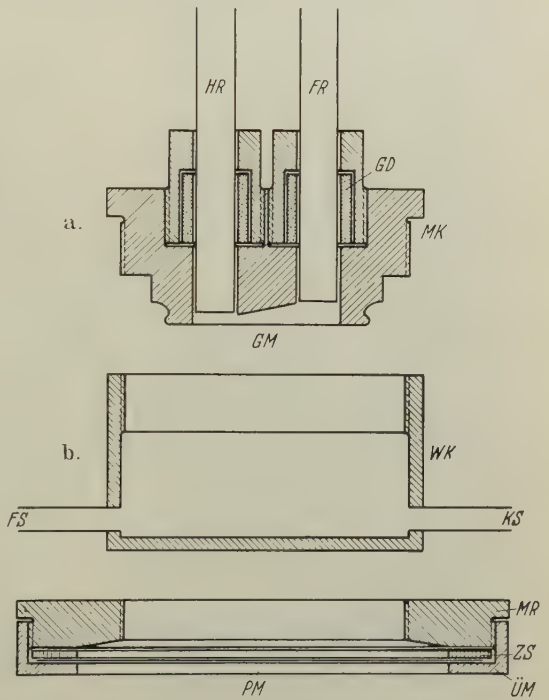


Abb. 1.
Schema des Sekretionsmessers.
a *MK* Metallkopf, *HR* Heberrohr, *FR* Füllrohr, *GD* Gummidichtung, *GM* Gummimembran.
b *WK* Metallkammer, *KS* Kapselstutzen, *FS* Füllstutzen.
c *MR* Metallring, *ZS* Zwischenscheibe, *ÜM* Überwurfmutter, *PM* Plexiglasmembran.

Wir haben deshalb ein Gerät mit automatischer Entleerung entwickelt, das eine fortlaufende Registrierung des Sekretionsvorganges und eine genaue Messung der Sekretmenge gestattet. Darüber hinaus ist es mit unserem Verfahren möglich, gleichzeitig auch das spez. Gewicht des Sekretes fortlaufend aufzuzeichnen.

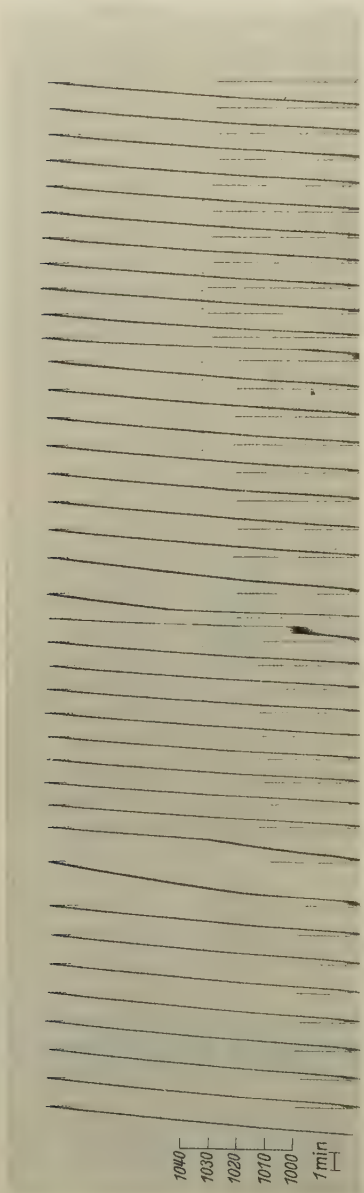


Abb. 2. Eichkurve des Sekretionsmessers mit Salzlösungen verschiedenen spezifischen Gewichtes.

Dieser Sekretionsmesser besteht aus einem Metallkopf (*MK*), in den von oben ein Füllrohr (*FR*) und ein Heber (*HR*) mit einer Gummidichtung (*GD*) eingelassen sind. Unten ist der Metallkopf mit einer Gummimembran (*GM*) überspannt. Dadurch werden Füllrohr und Heber zu einem abgeschlossenen, kommunizierenden Röhrensystem, das durch den bis nahezu auf die Gummimembran reichenden Heber fast völlig entleert werden kann. Dieser Teil des Sekretionsmessers wird in eine Metallkammer (*WK*) eingeschraubt, die über den Stutzen (*KS*) mit einer Mareyschen Kapsel in Verbindung steht. Mareysche Kapsel und Metallkammer sind mit Wasser gefüllt. Die Membran der Kapsel trägt zwei Spiegel, von denen der eine nahe der Membranmitte, der andere am vertikalen Rand aufgeklebt ist. Der zweite Stutzen (*FS*) der Metallkammer dient der Füllung (Abb. 1a—c).

Im einzelnen laufen folgende Vorgänge bei der Messung ab: Das körperwarme Sekret wird mit einem Kühlrohr auf 18° C abgekühlt, bevor es in den Sekretionsmesser einfließt. Das Röhrensystem füllt sich allmählich und entleert sich jedesmal automatisch, sobald die Flüssigkeitssäule den höchsten Punkt des Hebers überschritten hat.

Während der Füllung nimmt der hydrostatische Druck, der auf der Gummimembran (*GM*) lastet, mit dem Anstieg der Flüssigkeitssäule zu. Die Gummimembran wölbt sich entsprechend vor und drückt das Wasser der Metallkammer in die Mareysche Kapsel, deren Membran sich ebenfalls ausbuchtet. Durch die Membranbewegung wird der „Mittelspiegel" nur wenig, der „Randspiegel" dagegen stark gedreht. Die Aufzeichnungen der Spiegelbewegungen erfolgt mit Hilfe von Einfadenlampen auf ein optisches Kymographion. Hierbei liefert uns der

„Mittelspiegel" die Sekretionskurve, deren Steilheit die Sekretionsgeschwindigkeit, deren Höhe die sezernierte Menge anzeigt. Von der Bewegung des „Randspiegels" wird nur der letzte Teil vor jeder Ausheberung auf den Film gebracht. Die Höhe des Umschlagpunktes zeigt dann das spez. Gewicht jeder Röhrenfüllung an. Die Gummimembran hat eine Empfindlichkeit von 0,9 mm Ausschlag für 1/1000 des spez. Gewichts bei 1,5 m Lichtweg. Die Fehlergrenze beträgt $\pm 0{,}5$ mm bei einer Röhrenfüllung von 12 cm³. Eine Eichkurve mit Salzlösungen verschiedenen spez. Gewichtes ist in Abb. 2 dargestellt.

Der Sekretionsmesser erlaubt auch eine mechanische Registrierung auf eine Rußkymographion, falls die gleichzeitige Aufzeichnung des spez. Gewichtes nicht erforderlich ist. Hierbei wird von der beschriebenen Apparatur lediglich der Kopfteil mit der Gummimembran (GM) benötigt. Auf die Gummimembran wird ein Metallplättchen aufgeklebt, das über zwei Scharniergelenke mit einem Schreibhebel in Verbindung steht. Die Abb. 3 zeigt die Aufzeichnung eines Sekretionsverlaufes auf eine Rußtrommel.

Abb. 3. Sekretionskurve auf einer Rußtrommel.

Bei Versuchsanordnungen, die eine räumliche Trennung des Sekretionsmessers von der Registriereinrichtung erfordern, sind elektrische Meßverfahren für die Aufzeichnung der Sekretion notwendig. Mit Hilfe von Dehnungsstreifen läßt sich unser Sekretionsmesser verwenden, der auf dem Prinzip der Registrierung des hydrostatischen Druckes beruht.

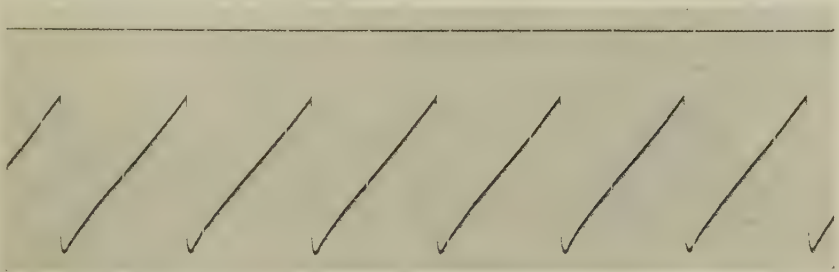


Abb. 4. Elektrische Registrierung eines Sekretionsverlaufes mit Hilfe von Dehnungsstreifen.

Hierbei wird auf den Metallkopf (*MK*) ein Metallring (*MR*), der mit Hilfe einer Zwischenscheibe (*ZS*) und einer Überwurfmutter (*ÜM*) eine 0,1 mm dicke Plexiglasmembran (*PM*) trägt, aufgeschraubt (vgl. Abb. 1c). Auf dieser Membran sind zwei Dehnungsstreifen (Typ GM 4472 der Philips-Valvo) von je 600 Ω aufgeklebt, die mit zwei konstanten Manganinwiderständen von ebenfalls je 600 Ω in eine Wheatstonesche Brücke geschaltet sind; an der Brücke liegen 24 V Gleichspannung, so daß jeder Zweig von ca. 10 mA durchflossen wird. Als Null-Instrument dient ein Spiegelgalvanometer einer Empfindlichkeit von $1 \cdot 5 \times 10^{-7}$ A. Bei der Messung bewirkt die Änderung des hydrostatischen Druckes eine Dehnung der Plexiglasmembran, mit der eine Widerstandsänderung der Dehnungsstreifen

entsprechend $\frac{\Delta L/L}{\Delta R/R} = k$ parallel geht. k beträgt bei unseren Dehnungsstreifen 2,10 $\pm$ 2%. Die Abb. 4 zeigt eine Kurve, die mit dieser Anordnung gewonnen wurde.

Bei Sekreten mit extremen Oberflächenspannungs- und Viscositätswerten können Störungen der Heberwirkung eintreten; für solche Fälle wird der Heber des Sekretionsmessers durch eine Ventileinrichtung, die von einem Elektromagneten betätigt wird, ersetzt. Diese besteht aus einem Ventilkegel, dessen Sitz sich in einem Glastrichter befindet. Seitlich unterhalb des Ventilsitzes hat der Glastrichter ein nach unten gebogenes Auslaufrohr. Die Abb. 5 zeigt diese Apparatur. Wenn die Flüssigkeit im Füllrohr eine bestimmte Höhe erreicht hat, hebt sie einen kleinen Glasschwimmer (S) an, der dann einen Kontakt (K_1) im Stromkreis des Elektromagneten (EM) schließt: Das Ventil (V) öffnet sich der Inhalt tritt aus. Da mit dem Abfallen des Flüssigkeitsspiegels im Füllrohr der Schwimmer ebenfalls sinkt und der Stromkreis des Elektromagneten wieder geöffnet wird, ist noch ein Relais (R) eingeschaltet, das die Entleerungszeit verlängert. Diese Zeit reicht aus, um einen zweiten parallel geschalteten Kontakt (K_2) auszulösen, der durch den Strömungsdruck der ausfließenden Flüssigkeit geschlossen wird und sich erst nach völliger Entleerung des Apparates wieder öffnet.

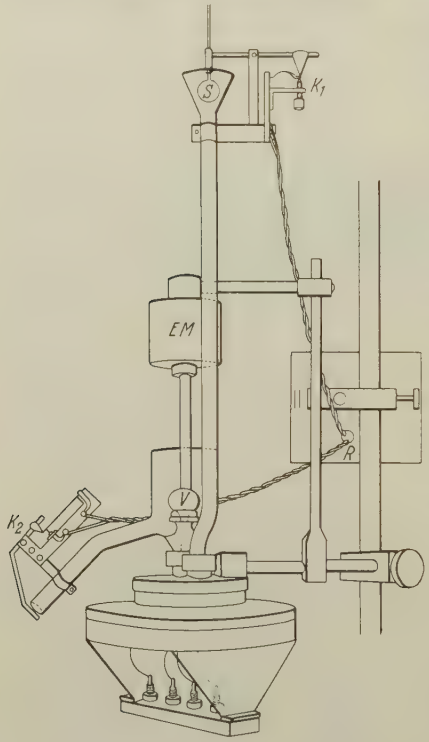


Abb. 5. Sekretionsmesser mit elektrisch gesteuertem Entleerungsmechanismus.

Zusammenfassung.

Es wird ein automatischer Sekretionsmesser beschrieben, der eine fortlaufende Registrierung der Sekretion ermöglicht. Die Sekretion wird über die Änderung des hydrostatischen Druckes in einem Glasrohr gemessen, das von einem Heber oder von einer elektrisch gesteuerten Ventileinrichtung automatisch entleert wird. Die Registrierung kann erfolgen:

1. auf einer Rußtrommel mittels Gummimembran und Schreibhebel,

2. auf einem optischen Kymographion entweder mit Membranmanometer und Spiegel oder mit Plexiglasmembran, Dehnungsstreifen und Galvanometer.

Die Aufzeichnung des Sekretionsvorganges liefert Kurven, deren Ordinate die sezernierte Menge und deren Steilheit die Sekretionsgeschwindigkeit wiedergibt. Durch Verwendung einer Mareyschen Kapsel mit einem Mittel- und Randspiegel läßt sich mit dem gleichen Gerät auch das spezifische Gewicht des Sekretes fortlaufend mitregistrieren.

Literatur.

[1] Condon, N. E.: J. of Physiol. **56**, IV (1926). — [2] Gibbs, O. S.: J. Labor. a. Clin. Med. **12**, 686 (1927). — [3] Harris, D. T.: J. of Physiol. **71**, XXII (1931). — [4] Heyden, R.: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **74**, 160 (1936). — [5] Junkmann, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **120**, 314 (1927). — [6] Robbers, H., u. A. Hampel: Pflügers Arch. **237**, 213 (1936). — [7] Rothlin, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 635 (1934). — [8] Straub, W.: Zit. n. H. Führer in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. IV, 7, S. 579, 1923. — [9] Voegelmann, S.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **74**, 181 (1913). — [10] Weigmann, R., u. A. Hampel: Zool. Anz. Suppl. Bd. **9**, 281 (1936). — [11] Winton, F. R.: J. of Physiol. **87**, 22 (1936).

Prof. Dr. W. Kreienberg, Physiol. Inst. d. Johannes-Gutenberg-Univ., Mainz.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 462—478 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Über spasmolytische Wirkungen am Sphincter Oddi.

Von
W.-D. Erdmann und H. F. Henne.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. März 1953.)

Aus der chirurgischen Literatur geht hervor, daß der Operateur in auffallend wenig Fällen organische Ursachen für Gallenkoliken finden kann. Geissendörfer, Lester und Colp weisen z. B. darauf hin, daß namentlich Spasmen des Sphincter Oddi bei solchen „funktionellen Gallenkoliken" eine Rolle spielen können. Auch Schüpbach sieht Spasmen des Sphincter Oddi im Rahmen einer sogenannten „vegetativen Dystonie" für die Entstehung von nicht organisch bedingten Gallenkoliken als bedeutungsvoll an.

Mit dieser Blickrichtung auf den Sphincter Oddi, den für die Gallenentleerung vielleicht wichtigsten Teil der abführenden Gallenwege, wird auch die experimentelle Forschung neu angeregt zu einer Analyse der möglichen pharmakologischen Wirkungen auf diesen Schließmuskel, durch dessen Tonus der Gallenabfluß gesteuert wird.

Dies erscheint auch deshalb notwendig, weil die neueren klinischen Erfahrungen den Ergebnissen der früheren Untersuchungen von Brugsch und Horsters, die dem Sphincter Oddi keine wesentliche Bedeutung für die Entleerung der Galle in das Duodenum zuerkannten, zu widersprechen scheinen.

Bisher war die Beurteilung pharmakologischer Wirkungen am Sphincter Oddi vielleicht zu sehr auf choleretisch und cholokinetisch wirksame Mittel ausgerichtet gewesen. Grundlegende Forschungen von Westphal haben freilich auch schon auf Physiologie und Pharmakologie des Sphincter Oddi besonderes Gewicht gelegt und namentlich die Innervationsverhältnisse klarzulegen versucht. Westphal hat dem Schließmuskel maßgebliche Bedeutung für die Gallenentleerung zugeschrieben, wie aus seinen Versuchen, mit Hilfe von Druckmessungen im Ductus choledochus die Ausflußbedingungen zu klären, hervorgeht. Seine Auffassungen scheinen aber später nicht genügend beachtet worden zu sein.

Für die Therapie ist vor allem die Frage von Bedeutung, welche Pharmaka speziell für die Lösung eines Oddi-Krampfes in Betracht kommen, und welche Pharmaka — etwa bei der Behandlung gleichzeitiger anderer Beschwerden — vermieden werden müssen. Die Beantwortung dieser Frage war Ziel unserer tierexperimentellen Untersuchungen. In neuerer Zeit ist zudem eine Reihe spasmolytisch wirkender Pharmaka eingeführt worden, deren Eingriffsmöglichkeiten in die genannten funktionellen Störungen zu analysieren wünschenswert schien.

Bei der experimentellen Prüfung pharmakologischer Wirkungen am Sphincter Oddi war eine Voraussetzung zu erfüllen: Die Methode mußte geeignet sein, den Tonus des Sphincter Oddi unter möglichster Schonung der natürlichen Innervationsverhältnisse fortlaufend zu registrieren. Mit Hilfe dieser Methode sollten dann nach Erzeugung künstlicher Oddi-Spasmen Spasmolytika unter Kontrolle ihrer Nebenwirkungen auf Kreislauf und Darmtonus untersucht und ihre Angriffsweise auch bei verschiedener Art der Zufuhr verglichen werden.

I. Methodik.

Die Versuche wurden an 6 Katzen in Chloralose (0,08 g/kg)-Urethan (0,25 g/kg)-Narkose und 40 Hunden in Morphin (4 mg/kg)-Chloralose (0,08 g/kg)-Urethan (0,25 g/kg)-Narkose durchgeführt. In die Art. carotis comm. sin. wurde eine Kanüle zum Anschluß an eine Blutdruckregistrierung, in die V. femoralis dextra eine Kanüle für Injektionszwecke und in die Trachea eine Trachealkanüle zum Anschluß an die Atempumpe eingebunden. Ein Teil der Tiere wurde bivagotomiert. Die Eröffnung des Abdomens erfolgte mit einem medianen Längsschnitt vom Proc. xiphoideus bis zum Nabel. Der Ductus choledochus wurde bis zu seiner Mündung in das Duodenum dargestellt und möglichst weit zentral (leberwärts) unterbunden. Die Ligatur mußte jedoch soweit peripher gelegt werden, daß in das distale Choledochusende keine Gallengänge mehr einmündeten. In dieses distales Stück wurde ein dünner Polyäthylenkatheter eingeschoben, dessen Mündung kurz vor den Sphincter Oddi zu liegen kam. Nach Fixation wurde das freie Ende des flexiblen Katheters im unteren Bereich der linken Thoraxwand nach außen geleitet. Wenn bei der Durchführung des Katheters durch die Thoraxwand ein Pneumothorax eintrat, wurde die Atempumpe eingeschaltet. In einigen Versuchen wurde die Gallenblase drainiert, um etwaige Gallenstauungen oberhalb der Ligatur zu vermeiden. Bei einem Teil der Versuchstiere wurde der Magen pylorusnah von außen angeschnitten. Die dann hervorquellende uneröffnete Schleimhaut wurde mit einer Rundnadel so umfahren, daß der Faden rund um das Lumen in die Submucosa zu liegen kam. Nach kräftiger Ligatur wurde die kleine Peritonealwunde sorgfältig vernäht. Diese „endomucöse" Schleimhautnaht diente zu einem sicheren Verschluß des Magens unter möglichster Schonung von oberflächlich über den Magen verlaufenden Nervenfasern. Bei diesen Versuchen wurde ein Magenschlauch eingelegt, um den produzierten Magensaft fortlaufend absaugen zu können. Bei manchen Versuchstieren wurde schließlich das Duodenum drainiert und unterhalb (analwärts) davon ein mit Wasser gefüllter Ballon in den Darm eingelegt. Der Zuführungsschlauch des Ballons wurde mit einer Mareyschen Kapsel verbunden, die mit Flüssigkeitsübertragung zur Registrierung der Darmbewegungen diente. Der auf der Darmwand lastende Druck betrug durchweg 10—20 cm H_2O. Zuletzt erfolgte der Verschluß des Abdomens durch Naht.

Nach Ablauf einer Wartezeit von 1 Std wurde mit den Versuchen begonnen. Registriert wurden dabei der arterielle Blutdruck, die Darmbewegungen und — mitunter — der Gallenblasentonus. Zur Registrierung der Sphinctertätigkeit bedienten wir uns zweier verschiedener Methoden, deren Prinzip darauf beruhte, entweder den Wasserdruck zu ermitteln, der zur Durchbrechung des Sphincter Oddi-Tonus notwendig ist (*Druckabfallregistrierung*), oder das Flüssigkeitsvolumen zu bestimmen, das bei konstant gehaltenem Druck den Sphincter Oddi in der Zeiteinheit durchfließt (*Durchflußregistrierung*). Beide Methoden geben Auskunft über die Tonuslage des Schließmuskels, sind aber je nach dem speziellen Untersuchungsziel verschieden geeignet.

A. Druckabfallregistrierung.

Nach Anschluß eines Wassermanometers an den Choledochuskatheter wurde zunächst der Wasserdruck ermittelt, der nötig ist, um den Tonus des Sphincter Oddi zu überwinden. Dieser ist dann erreicht, bzw. eben überschritten, wenn gerade Flüssigkeit aus dem System durch den Choledochus in das Duodenum übertritt. Für die Registrierung wird nunmehr ein Schwimmer angeschlossen, der absinkt, solange ein Abfluß in das Duodenum erfolgt. Ist der Sphincter geschlossen, so verläuft die vom Schwimmer gezeichnete Kurve waagerecht, da jetzt kein Durchfluß mehr möglich ist. Der Tonus des Sphincter Oddi wurde zu Beginn der Versuche mit durchweg 80—160 mm Wasserdruck ermittelt. Nunmehr wurde der Schwimmer auf eine Höhe von 120 mm H_2O eingestellt und das zu prüfende Pharmakon injiziert.

Pharmaka, die den Tonus des Sphincter Oddi zu steigern vermögen, wurden am nicht vorbehandelten Tier geprüft. Spasmolytisch wirksame Stoffe dagegen wurden am prostigminisierten (0,05 mg/kg Prostigmin i. v.) Versuchstier oder an Tieren, deren Sphinctertonus durch lokale Dorylgaben (0,125—0,25 mg Doryl in den Ductus choledochus) gesteigert worden war, geprüft. Dabei wurden Tonussteigerungen erreicht, die einem Druck bis zu 900 mm H_2O das Gleichgewicht hielten. Kräftige spasmolytische Wirkungen, die den Tonus des Sphincter Oddi in normale Bereiche senkten oder völlig aufhoben, zeigten sich einwandfrei durch das mehr oder weniger steile Absinken des Schwimmers. Wenn der injizierte Wirkstoff zu nur geringer Tonusänderung führt und somit der bestehende Wasserdruck von 120 mm nicht unterschritten wird, so wird der Effekt nicht durch das registrierende Schwimmermanometer, sondern durch das jeweils anzuschließende einfache Wassermanometer erfaßt. Letzteres diente zur intermittierenden Kontrolle der Tonuslage des Sphincter Oddi.

B. Durchflußregistrierung.

Hierbei werden statt des Schwimmermanometers Mariottesche Flaschen an den Choledochuskatheter angeschlossen. Sie bieten den für bestimmte Versuche gewählten Vorzug einer Durchströmung bei konstantem Druck, der meist mit 250—300 mm H_2O eingestellt wurde. Ein Maß für den Durchfluß und damit für den Tonus des Sphincter Oddi geben die in den Flaschen durch nachströmende Luft gebildeten Blasen. Ihre Registrierung erfolgte elektrisch, indem sie beim Durchperlen einer dünnen Quecksilberschicht am Grunde der Maroitteschen Flasche den elektrischen Strom für die Betätigung eines elektromagnetisch schreibenden Hebels unterbrachen. Die Methode der Durchflußregistrierung ist besonders empfindlich und daher zur Demonstration kurzfristiger oder schwacher Wirkungen besonders geeignet.

Neben im vegetativen Nervensystem wirksamen Stoffgruppen interessierten besonders die sogenannten „Spasmolytica“. Es wurden gewöhnlich Normaldosen verabreicht, zum Teil auch die Wirkung wesentlich höherer Dosierungen geprüft. Die Injektion der Stoffe erfolgte entweder intravenös oder lokal durch den Katheter in den Ductus choledochus.

II. Experimentelle Ergebnisse.

Als Beispiel für die experimentelle Prüfung eines am Sphincter Oddi spasmolytisch wirkenden Pharmakons diene Abb. 1*a* und *b*, die den spasmolytischen Effekt von *Euphyllin* bei Druckabfall- (1*a*) und Durchflußregistrierung (1*b*) zeigt. Bei Abb. 1*a* bestand ein Sphinctertonus von 120 mm H_2O. Der auf 120 mm H_2O eingestellte Schwimmer zeichnet

also eine waagerechte Linie. Wenige Sekunden nach intravenöser Injektion von Euphyllin (6 mg/kg) kommt es zu einer weiten Sphincteröffnung, die durch eine Sturzentleerung des Systems gekennzeichnet ist. Die Wirkungsdauer läßt sich jederzeit durch erneute Schwimmereinstellung ermitteln. Bei Abb. 1*b* lastet auf dem Sphincter Oddi ein kontinuierlicher Druck von 300 mm H_2O. Der Sphincterspasmus äußert sich dabei als Durchflußhemmung oder -sperre (nach Prostigmingabe),

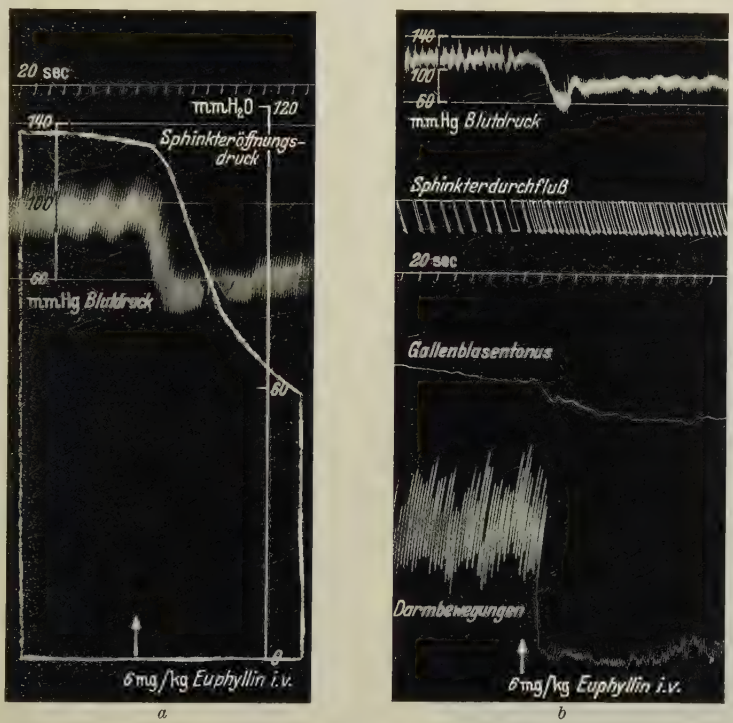


Abb. 1*a* und *b*. Euphyllinwirkung auf den Sphincter Oddi bei Druckabfall- (Abb. 1*a*) und Durchflußregistrierung (Abb. 1*b*).

was aus der niedrigen Tropfgeschwindigkeit ersichtlich ist. Unmittelbar nach intravenöser Injektion von Euphyllin (6 mg/kg) löst sich der bestehende Sphincterkrampf, wie die abrupt einsetzende hohe Tropfgeschwindigkeit verdeutlicht. Bei diesem Versuch wurden auch der Gallenblasen- und Darmtonus gleichzeitig registriert. Aus der Abbildung geht hervor, daß die Spasmolyse am Spinhcter Oddi von einer Tonusherabsetzung der Gallenblasen- und Darmwand begleitet wird. Die spasmolytische Wirkung von Euphyllin hält etwa 10 min an, ein blutdrucksenkender Effekt geht ihr stets parallel.

Da die einzelnen Komponenten des Euphyllins, Theophyllin und Äthylendiamin, spasmolytisch wirksam sind, mag die Euphyllinwirkung einen Additionseffekt der beiden Teilwirkungen darstellen.

Die spasmolytische Euphyllinwirkung scheint durch einen Angriff am glatten Muskel selbst zustande zu kommen, zumal vergleichende Untersuchungen am (ganglienfreien) isolierten Kaninchenohr in der Konzentration von $2{,}4 \times 10^{-4}$ einen deutlichen spasmolytischen Effekt zeigten. Auch am isolierten Kaninchendarm lassen sich mit therapeutisch möglichen Konzentrationen (2×10^{-4}) antagonistische Wirkungen gegen $BaCl_2$, Doryl und Nicotin erzielen. Diese Befunde decken sich im wesentlichen mit den von Paris, Vanlerenberghe und Delmotte gefundenen Werten.

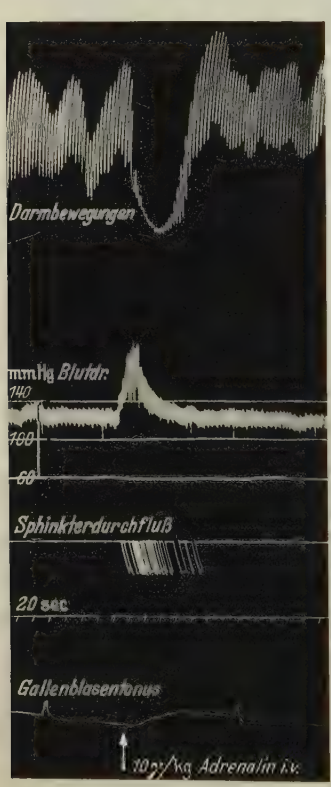


Abb. 2. Adrenalinwirkung auf den Sphincter Oddi.

In Tab. 1 sind alle geprüften Stoffe, ihre Dosierung, ihre pharmakologischen Wirkungen am Sphincter Oddi, am Darm und auf den Blutdruck, sowie ihre Wirkungsdauer angegeben. Eine detaillierte Beschreibung der Versuchsergebnisse erübrigt sich somit. Nur einige besonders markante oder interessante Effekte sollen, zum Teil auch an Hand von Abbildungen, näher behandelt werden. Sämtliche Abbildungen stammen aus an Hunden durchgeführten Experimenten. Die betreffenden Stoffe sind in der Tabelle mit einem * versehen.

A. Sympathicomimetica.

Adrenalin und *Noradrenalin* zeigen am Sphincter Oddi ebenso wie am Darm flüchtige, aber deutliche tonussenkende Wirkungen, während es an der Gallenblase regelmäßig zu deutlicher Kontraktion kommt (Abb. 2). Bei einigen Versuchstieren ist gelegentlich statt einer tonussenkenden eine tonussteigernde Wirkung am Schließmuskel zu beobachten.

Der sympathicomimetische Charakter von Adrenalin und Noradrenalin läßt eine tonussenkende Wirkung am Sphincter Oddi erwarten. Von welchen Faktoren die mitunter auftretenden tonussteigernden Wirkungen abhängen, war nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Eine Abhängigkeit von der Tonuslage der Sphincter Oddi ließ sich jedenfalls nicht

Tabelle 1.

Stoff	Dosis	Wirkung auf: Sphincter-tonus	Dauer min	Darm-tonus	Peristaltik	Blutdruck	Dauer min
I. Intravenös geprüfte Pharmaka.							
Parasympathicomimetica							
Acetylcholin	5—10 γ/kg	+	0,5—1			—	1
Doryl[1]	5—10 γ/kg	++	1—3			—(!)	10
Pilocarpin	0,5 mg/kg	∅	∅			—	1
Pilocarpin	1—3 mg/kg	++	3			—	5
Prostigmin[2]	0,05 mg/kg	+++	20	+	(+)	(-)	3—5
Prostigmin	0,2 mg/kg	——	10	+	(+)	—	10
Eserin	10 γ/kg	++	5	+	+	(—)	3—5
*Eserin	100 γ/kg	——	10	+	(+)	(—)	10
Sympathicomimetica							
*Adrenalin	5—10 γ/kg	— (selt. +)	1—2	—	—	+	2—4
Noradrenalin	5—10 γ/kg	— (selt. +)	1—2	—	—	+	2—4
Narkotica							
Chloroform	2 gtt. in Atemschl.	——	10			—	10
Pernocton[3]	20 mg/kg	——	20			—	20
Evipan[4]	20 mg/kg	——	20			—	20
Muskelrelaxantien							
d-Tubocurarin	0,5 mg/kg	———	20			—	10
Calebassencurare	0,05 mg/kg	———	20			∅	∅
*Flaxedil[5]	1—3 mg/kg	——	20	—	—	∅ bis —	(2)
*Lysthenon[6]	1 mg/kg	++	8	+	+	∅	∅
Spasmolytica							
*Euphyllin	6 mg/kg	———	10	—	—	—	10
Theophyllin	5 mg/kg	——	5—10			—	5—10
Äthylendiamin	1 mg/kg	—	5			—	5
Papaverin	5 mg/kg	———	5	—	—	—	2
Atropin	1—5 mg/kg	———	30—40	—	—	—	3
Amylnitrit	2 gtt. in Atemschl.	———	20	—	—	—(!)	10
Trichloräthylen	2 cm³ in Atemschl.	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Sonstige Pharmaka							
Decholin[7]	50-100 mg/kg	———	10	—	—	(—)	(5)
Novocain (Procain)	6—10 mg/kg	———	10	—	—	—	10
Novocainamid (Procainamid)	50-100 mg/kg	——	10	—	—	—	10
*Morphin. hydrochlor.	1—4 mg/kg	——	6—10	—	—	(—)	(2)
		später + bis ++	üb. 60	+	später + bis ++	∅	∅
Hypophysin	1—4 V.E.	—	2—5	—	—	±	3

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Stoff	Dosis	Wirkung auf					
		Sphincter-tonus	Dauer min	Darm-tonus	Peristaltik	Blutdruck	Dau mi
II. Lokal geprüfte Pharmaka.							
Magnesiumsulfat(25%)	500 mg	——	20	—	—	∅	∅
Decholin (20%) . . .	200 mg	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Novocain (1—2%) . .	100 mg	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Novocain (25%) . . .	300 mg	—	5	—	—	∅	∅
Novocainamid (10%) .	100 mg	—	5	—	—	∅	∅
*Prostigmin (0,05%). .	250 γ	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Doryl (0,025%) . . .	250 γ	+	3—5	+	∅	∅	∅
*Eserin (0,05%). . . .	250 γ	++	10	++	+++ (Kolik)	∅	∅

Zeichenerklärung: + Steigerung, — Verminderung, ∅ keine Wirkung.

[1] Carbaminoylcholinchlorid.

[2] Methylsulfat des Dimethylcarbaminsäureesters des Metaoxytrimethylammo-

[3] β-bromallyl-sek.-butylbarbitursaures Natrium. niums.

[4] N-Methylcyclohexenylmethylbarbitursäure.

[5] 1, 2, 3-Tri(β-Triäthylammoniumäthoxy)-benzoltrijodid.

[6] Succinylbischolinjodid.

[7] Natriumsalz der Dehydrocholsäure.

nachweisen. Möglicherweise spielt dabei die nicht exakt erfaßbare und stark variierende Bereitschaft zu gegenregulatorischen Mechanismen die wesentliche Rolle. Im Gegensatz zu den meisten spasmolytisch wirkenden Pharmaka führt Adrenalin zu einer Sphincteröffnung *ohne* gleichzeitige Blutdrucksenkung.

Die Möglichkeit eines paradoxen, durch Adrenalin bedingten Sphincterverschlusses läßt daran denken, daß Notfallfunktionen unter diesen Bedingungen Gallenkoliken auslösen können. Verstärkt würde dieser Effekt durch die Tatsache der gleichzeitigen Gallenblasenkontraktion.

B. Narcotica.

Die von uns geprüften Narcotica zeigen, wie zu erwarten war, durchweg spasmolytische Wirkungen. Schon daraus geht hervor, daß die verwendete Morphin-Chloralose-Urethan-Narkose die vegetative Funktion von Darm und Sphincter Oddi nicht entscheidend beeinträchtigt hatte. Auch der Vergleich mit Ergebnissen an decerebrierten Versuchstieren (unveröffentlichte Befunde) führte dazu, daß wir die Chloralose-Narkose als methodische Voraussetzung zur Durchführung dieser Versuche wählten. Unsere Versuchsergebnisse stimmen mit den von Mann und Potter an nicht narkotisierten Tieren erhaltenen Befunden gut überein.

C. Muskelrelaxantien.

d-Tubocurarin (0,5 mg/kg i. v.) führt zu einem deutlichen spasmolytischen Erfolg am Sphincter Oddi, dem eine flüchtige Darmerschlaffung parallel geht.

Es ist nicht zu erwarten, daß eine abdominelle Muskelrelaxation die direkte Ursache einer nachhaltigen Spasmolyse von Darm und Sphincter sein könnte. Andererseits ist nicht bekannt, daß Curare in eben curarisierender Dosis eine Wirkung auf den glatten Muskel besitzt. Die Annahme eines ganglionären Angriffspunktes ist naheliegend (vgl. Guyton u. Reeder), vergleichende Untersuchungen mit Ganglien blockierenden Substanzen (Erdmann u. Henne) haben aber selbst bei hoher Dosierung niemals Tonussenkungen des Schließmuskels erkennen lassen.

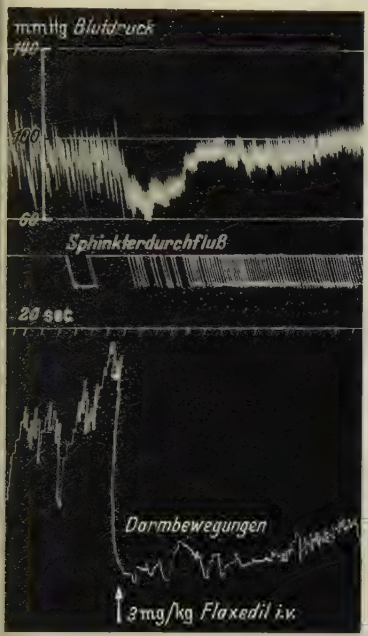


Abb. 3*a*.

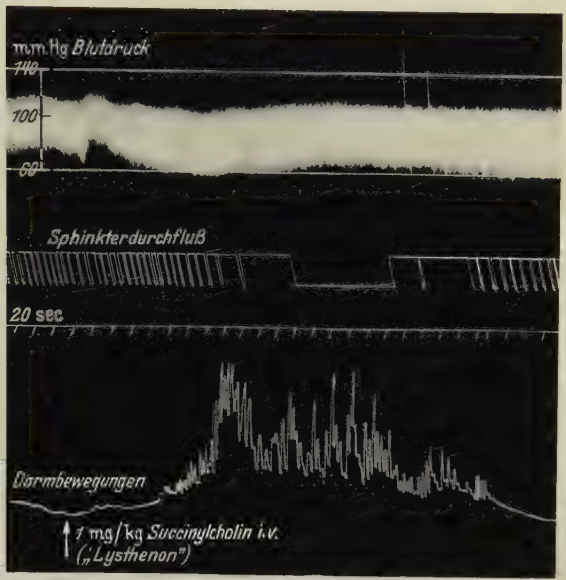


Abb. 3*b*.

Abb. 3*a* und *b*. Wirkung von Flaxedil auf den Sphincter Oddi (Abb. 3*a*). Wirkung von Succinylcholin (Lysthenon) auf den Sphincter Oddi (Abb. 3*b*).

Man muß also, wenn auch mit Zurückhaltung, annehmen, daß Curare schon in der geprüften Dosierung an den vegetativen Nervenendigungen angreift, indem es möglicherweise die Schwelle für Acetylcholin wie an der motorischen Endplatte erhöht. Nach Erdmann und Mercker hebt Curare in der geprüften Dosierung den Vagusreizerfolg auf das Herz auf, ein Befund, der ebenfalls über einen Angriffspunkt von Curare an den Vagusendigungen oder an Herzganglien gedeutet werden kann. Feldberg schreibt die hemmende Wirkung von Curare auf den Darm einem „atropinähnlichen" Wirkungsmechanismus zu.

Zum Vergleich wurde auch die Wirkung von *Flaxedil* auf den prostigminisierten Schließmuskel in sicher muskellähmender Dosierung (1 bis 3 mg/kg i. v.) geprüft (Abb. 3*a*). Dabei kommt es zu einem augenblicklichen Tonusverlust des Darmes (ohne Darmlähmung) und zu einer Sturzentleerung der Gallenwege.

Flaxedil besitzt in den geprüften Dosierungen mit Sicherheit noch keine ganglionären Wirkungen (Mainland u. Shaw), greift andererseits aber auch nicht in den Acetylcholinmechanismus ein. Für Flaxedil ist jedoch eine spezifische vagolytische Wirkung bereits bekannt (Marbury, Artusio, Wescoe u. Riker sowie Pelikan u. Unna), die zur Deutung seiner Wirkungsweise am Sphincter Oddi herangezogen werden könnte.

Das neuerdings als Muskelrelaxans klinisch verwendete *Succinylcholin* führt dagegen selbst bei hoher curarisierender Dosierung (1 mg/kg i. v.) zu keiner spasmolytischen Wirkung am Sphincter Oddi (Abb. 3*b*). Nach einer Latenzzeit von 2—3 min tritt im Gegenteil eine beträchtliche erregende Wirkung auf Darmtonus und Peristaltik in Erscheinung, die von einem spastischen Verschluß des Sphincter Oddi begleitet wird. Die Wirkung hält etwa 6 min an.

Succinylcholin hat einen von Curare und Flaxedil abweichenden Wirkungsmechanismus, indem es nach neueren Untersuchungen von Evans, Gray, Lehmann und Silk über die Hemmung der Cholinesterase an der Endplatte zu einer neuromuskulären Blockade durch Acetylcholinanhäufung führt, deren Dauer von der Latenzzeit bis zur Hydrolyse des Succinylcholins durch die Serumcholinesterase abhängt. An Darm und Sphincter Oddi sind mit cholinesterasehemmenden Substanzen in Dosierungen, die am Skeletmuskel zur Hemmung der neuromuskulären Erregungsübertragung führen, im allgemeinen noch keine lähmenden Wirkungen zu erzielen. Möglicherweise kann dies mit höheren Dosen erreicht werden.

D. Spasmolytica.

2 gtt. *Amylnitrit*, die in den Einatemschlauch des künstlich beatmeten Tieres gegeben werden, führen zu einem ausgeprägten Tonusverlust des Sphincter Oddi, der von einer ausgiebigen Blutdrucksenkung begleitet wird. Die Wirkung hält etwa 20 min an.

Die spasmolytische Wirkung von Amylnitrit ist auch von Walters, McGowan, John und Knepper am Sphincter Oddi mit gleichem Ergebnis geprüft worden. Am Menschen wurden entsprechende Untersuchungen von Gaenssler und Mc Gowan durchgeführt.

Amylnitrit stellt also praktisch ein *Inhalationsspasmolyticum* dar. Der Gedanke lag nahe, daß sich auch das als Spasmolyticum empfohlene, inhalierbare *Trichloräthylen* am Sphincter Oddi gleichartig verhalten würde. Wider Erwarten erwies sich Trichloräthylen unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen (2 cm^3 in den Einatemschlauch des künstlich beatmeten Tieres) wirkungslos.

E. Sonstige Pharmaka.

Eine ausführliche Betrachtung der Wirkungsweise von *Decholin* und *Novocain* findet sich bei Henne und Erdmann. *Novocainamid* erwies sich erst in 5—10fach höherer Dosierung dem Novocain äquieffektiv. Dieses Dosenverhältnis trifft freilich auch bei anderen pharmakologischen Wirkungen zu (vgl. Normaldosen). Es ist interessant, daß Novocainamid

bei lokaler Applikation in den Ductus choledochus selbst wirksamer als Novocain ist, was dafür spricht, daß Novocainamid leichter als Novocain in die Schleimhaut eindringt. Letzteres zeigt erst mit relativ hohen Dosen einen nachweisbaren spasmolytischen Effekt bei örtlicher Anwendung am Sphincter Oddi.

Immerhin können die therapeutischen Erfolge von Varela-Fuentes und Varela-Lopez mit peroralen Novocaingaben (3 -8 mal 150 mg/die) bei Spasmen der Gallenwege einen Hinweis für die mögliche praktische Bedeutung dieser Befunde geben.

Unmittelbar nach intravenöser Injektion von 1 mg/kg *Morphin. hydrochlor.* kommt es, wie aus Abb. 4 hervorgeht, zu einer deutlichen

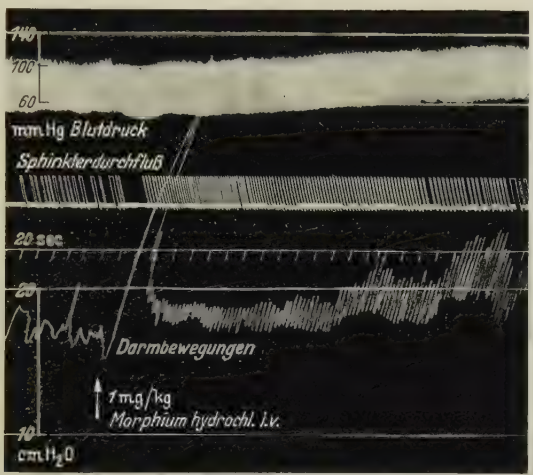


Abb. 4. Wirkung von Morphin. hydrochl. auf den Sphincter Oddi.

Spasmolyse am Sphincter Oddi[1]. Diese Wirkung hält etwa 10 min an. Am Darm zeigt sich gleichzeitig ein regularisierender Effekt auf die Peristaltik, der zunächst mit einer nur geringen Zunahme der Tonuslage verbunden ist. Etwa 10—20 min nach der Injektion pflegt der Tonus des Sphincter Oddi stärker anzusteigen, die Darmperistaltik nimmt an Frequenz und Amplitude zu. Sphincter- und Darmspasmen haben wir unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen jedoch nicht beobachten können. Morphin hatte in der angewendeten Dosierung keine wesentlichen Kreislaufwirkungen.

Im Gegensatz zu den am Menschen beobachteten spasmogenen Wirkungen von Morphin (Kewitz, Remmer u. Engelhardt sowie Gaenssler u. McGowan) auf den Darm steht beim Hund also zunächst eine

[1] Bei diesen Versuchen entfiel die sonst methodisch zur Narkosevorbereitung durchgeführte Morphinapplikation!

tonussenkende Wirkung im Vordergrund[1]. Auffallend erscheint dabei der regularisierende Effekt auf eine ursprünglich unregelmäßig spastische Peristaltik. Die in der neueren Literatur zu findende Aversion gegen die Anwendung von Morphinderivaten bei Gallenkoliken (Tillier) beruht auf der Kenntnis der tonuserhöhenden Wirkung des Morphins am menschlichen Darm. Therapeutische Erfolge werden vorwiegend der zentralanalgetischen Wirkung des Morphins zugeschrieben. Sollte auch beim Menschen der durch Morphin bedingten Tonussteigerung eine Tonuserschlaffung vorausgehen, so dürfte man die therapeutische Verwendung doch weniger ablehnend beurteilen. Dies gilt auch für den Fall, wenn die spasmolytische Wirkung nur kurzfristig sein sollte. Denn eine Entleerung der gestauten Gallenwege führt bei Beseitigung des Oddi-Krampfes zur Entlastung des Systems und damit vielleicht auch zu nachhaltiger Unterbrechung des circulus vitiosus.

F. Lokale Wirkungen von Eserin und Prostigmin.

Bei der lokalen Applikation von parasympathicomimetisch wirkenden Substanzen in den Ductus choledochus zeigten sich wesentliche Wirkungsunterschiede. Abb. 5 demonstriert die Wirkung von je 0,25 mg *Prostigmin* und *Eserin*, die in den Ductus choledochus injiziert wurden. Während Prostigmin keinen Einfluß auf den Sphinctertonus hat, ist Eserin stark wirksam und führt am Darm sogar zu Koliken.

Dieser Befund ist deshalb bemerkenswert, weil Prostigmin in vivo wesentlich wirksamer als Eserin zu sein pflegt. Genuit und Labenz fanden, daß die beginnende Cholinesterasehemmung durch Eserin und Prostigmin am Kaninchenherzen einem Wirkungsverhältnis von 1:100 entsprach (Prostigmin 100mal wirksamer).

Lokale pharmakologische Effekte hängen natürlich in erster Linie davon ab, ob und wie schnell die Stoffe in die Schleimhaut einzudringen vermögen. Die Zusammenstellung der lokal geprüften Substanzen in der Tabelle zeigt, daß viele intravenös gut wirksame Stoffe bei lokaler

[1] Bei diesem Befund wurde auch an die Möglichkeit einer den Prostigminspasmus aufhebenden antagonistischen Morphinwirkung gedacht (Straub u. Leo). Jedoch fanden wir den gleichen Effekt auch an Tieren, die nicht mit Prostigmin vorbehandelt waren.

Unsere Beobachtungen stimmen nicht überein mit Angaben von Oettel, der am nichtbetäubten Darmfistel-Hund mittels Ballonregistrierung 3 Stadien der Morphinwirkung auf den Darm unterscheiden konnte. Tonussteigerungen mit verminderter Förderleistung standen dabei im Vordergrund. Wir injizierten dem nicht mit Morphin vorbehandelten (!) Hund nur 1 mg/kg Morphin (vgl. Oettel: 4 bis 5 mg/kg Morphin). Es erscheint uns nicht ausgeschlossen, daß Morphin — wie am ZNS der Katze (Girndt) — auch am Darm in kleinen Dosen beruhigend und in großen Dosen erregend wirken kann. Es muß ferner beachtet werden, daß in unseren Versuchen eine Basis-Narkose mit Chloralose und Urethan verwendet worden war, die etwaigen Tonussteigerungen durch Morphin entgegen wirken konnte.

Applikation völlig wirkungslos sein können oder erst in beträchtlich höherer Konzentration deutliche Wirkung zeigen. In diesem Zusammenhang interessiert der markante Wirkungsunterschied zwischen Eserin und Prostigmin bei örtlicher Verabreichung in den Ductus choledochus.

Grundsätzlich ist dieses unterschiedliche Verhalten nichts Neues. Salama und Wright sowie Kremer haben in Untersuchungen am ZNS zeigen können, daß Prostigmin und Eserin sogar entgegengesetzte Wirkungen zu entfalten vermögen: lokale Applikation von Prostigmin auf das Rückenmark führt zu Lähmung, lokale Einwirkung von Eserin dagegen zu spastischen Krämpfen. Die Erklärung für diese Effekte wird in den für Prostigmin und Eserin verschiedenen Löslichkeitsbedingungen gesehen (lipophiler Charakter des Eserins!), die es wahrscheinlich machen, daß Eserin in die Nervenzelle einzudringen vermag, um dort die Cholinesterase zu hemmen, während Prostigmin nicht eindringt und daher lediglich die synaptische

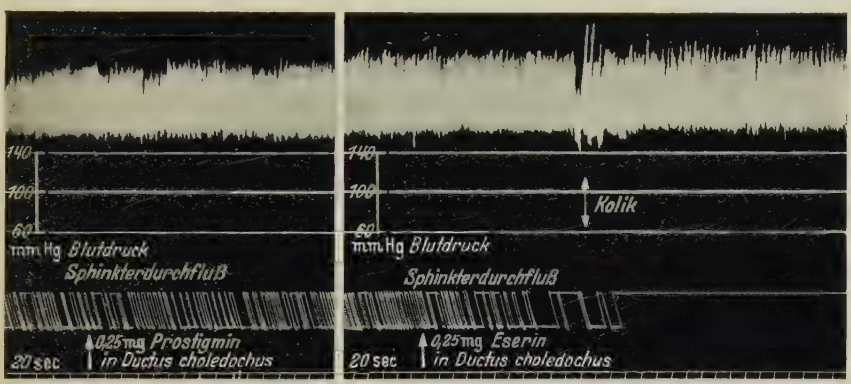


Abb. 5. Wirkung von Prostigmin und Eserin bei lokaler Einwirkung auf den Sphincter Oddi.

Cholinesterase angreift. Einen ähnlichen Befund konnten auch Grundfest, Nachmansohn, Kao und Chambers am isolierten Tintenfischnerven erheben: Eserin dringt gut durch die Nervenscheide in den Nerven selbst ein und kann die Erregungsleitung blocken, Prostigmin kann nicht penetrieren und wird erst wirksam, wenn es direkt in den Nerven injiziert wird. Eine weitere Parallele ist schließlich die bekannte Tatsache, daß Eserin mit gutem Erfolg in der augenärztlichen Praxis lokale Verwendung findet, während die conjunctivale Applikation von Prostigmin schlecht wirksam und daher ungebräuchlich ist.

Diskussion.

Mit dem Problem der Mechanik des Gallenabflusses in den Dünndarm haben sich zahlreiche Untersucher beschäftigt (Brugsch u. Horsters, Westphal, Ivy, Bayer, Grossman, Bayer, Günther u. Löhner u. v. a.). Wie wenig wir dennoch über diese Vorgänge wissen, zeigt z. B. die Tatsache, daß es noch immer nicht zweifelsfrei geklärt ist, ob der Gallenblase eine aktive Beteiligung an der Gallenentleerung zukommt oder ob ihre nachweislichen Volumenveränderungen lediglich Ausdruck einer passiven Anpassung sind. Diese Unklarheiten beruhen wohl zum Teil auch darauf, daß exakte Messungen nur mit Hilfe relativ grober

chirurgischer Eingriffe möglich sind, wobei die Tonuslage von Gallenblase, Gallengängen, Sphincter Oddi und Darm mit Sicherheit stark irritiert werden. Zum anderen besteht gerade zwischen diesen Organen eine enge wechselseitige Beeinflußbarkeit — vermutlich als Zeichen für ihr subtiles physiologisches Zusammenspiel —, die die Entscheidung, was Ursache, was Folge ist, schwierig gestaltet und namentlich pharmakologische Effekte unübersichtlich macht. Jede Methode der Druckmessung im Gallenwegsystem hat so ihre spezifischen Fehlerquellen, über die sich der Untersucher klar sein muß. Aus dieser Überlegung folgert auch, daß ein Vergleich der erhaltenen Ergebnisse lediglich mit den Befunden von Autoren, die eine ähnliche Methodik benutzt haben, möglich ist.

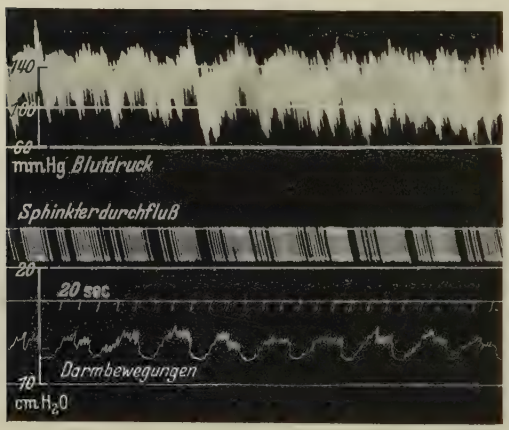


Abb. 6. Physiologische Korrelationen zwischen Darmbewegungen und Sphincterdurchfluß.

Durch die Ligatur des Ductus choleduchos haben wir versucht, zumindest die mechanischen Einflüsse der oberen Gallenwege einschließlich Gallenblase vom Versuchsobjekt fernzuhalten, und uns auf eine isolierte Untersuchung des Sphincter Oddi beschränkt. Dabei entsteht nun die Frage, inwieweit die Aktivität des Sphincter Oddi mit der Darmperistaltik, dem Darmtonus, dem Darminnendruck kausal zusammenhängt. Diese Frage muß für jedes Pharmakon gesondert beantwortet werden. Unter dem Einfluß stark wirkender Pharmaka wird man von vornherein gleichsinnige Tonusreaktionen am Duodenum und Sphincter Oddi erwarten dürfen. Ein wichtiger Hinweis für die funktionelle Sonderstellung des Sphincter Oddi wäre jedoch in einer Dissoziation zu sehen, d. h. wenn er dem Tonus des Duodenums gegensinnige Tonusreaktionen zeigen würde.

Eine gewisse Tonusparallelität zwischen Darm und Schließmuskel erscheint physiologisch und mechanisch sinnvoll. Abb. 6 zeigt eine solche rhythmische Parallelität zwischen Darm- und Sphinctertonus: jede Peristaltikwelle wird von einem Sphincterverschluß begleitet. Zur Charakterisierung einer „autonomen Funktion" des Sphincter Oddi ist jedoch entscheidend zu wissen, ob er sich auch unabhängig von dem eng mit ihm verknüpften Darmtonus durchsetzen kann. Derartige Zustände gibt es zweifellos, wie zwei extreme Beispiele zeigen sollen. Bei Abb. 7 wird nach hoher Eserindosis der Schließmuskel völlig gelähmt, während es

am Darm noch zu spastischer Peristaltik kommt. Umgekehrt zeigt Abb. 8, daß sich nach Nicotin zu einem Zeitpunkt völliger Darmatonie der Sphinctertonus deutlich steigert.

Solche Befunde stehen im Gegensatz zu den Untersuchungen von Chen und Beckmann sowie Leskovar, die in jedem Falle ein gleichsinniges Verhalten von Sphincter- und Darmbewegungen sahen. Diese Beobachtungen hängen unseres Erachtens mit der von den Autoren gewählten Methodik zusammen: Hier wurden mit Hilfe eines wassergefüllten Mikroballons, der, im Choledochus liegend, mit seiner Spitze bis in das Darmlumen ragte, Druckänderungen des Sphincter Oddi

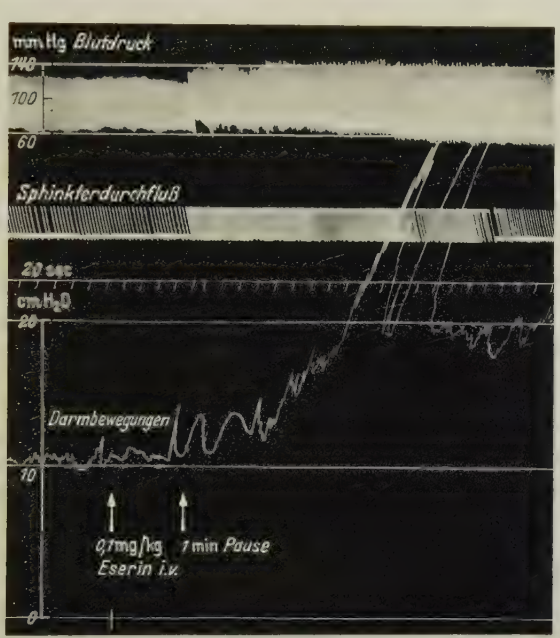


Abb. 7. Wirkung einer hohen Eserindosis auf den Sphincter Oddi.

registriert. Es erscheint möglich, daß hierbei die vom Duodenum vollführten Bewegungen aufgezeichnet werden können, auch wenn der Schließmuskel seine Tonuslage nicht verändert.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die am Sphincter Oddi spasmolytisch wirkende Substanzen gleichzeitig am Darm tonussenkend wirken. Ebenso führen die meisten den Sphinctertonus steigernden Pharmaka auch zu einer Tonus- und Peristaltiksteigerung des Darms. Es erscheint uns jedoch wesentlich, daß diese Parallelität offenbar kein physiologisches Gesetz ist, wie es oben genannte Beispiele zeigen. Damit scheint uns auch ein klarer Hinweis für die *funktionelle Sonderstellung des Sphincter Oddi innerhalb der glatten Muskulatur des übrigen Duodenalgebietes* gegeben zu sein. Es ist möglich, daß dieser Betrachtungsweise auch eine praktische Bedeutung zukommt.

Unter den von uns gewählten Narkosebedingungen wurde ein Ausgangstonus des Sphincter Oddi gefunden, der einem Druck von 80—160 mm H_2O (im Durchschnitt 120 mm H_2O) das Gleichgewicht hielt. Dies stimmt gut mit den von Mann und Potter gemessenen Werten überein. Sie fanden bei 29 von 37 nicht narkotisierten Hunden einen Gallenwegsdruck von 75—150 mm H_2O. Als mittlerer Wert werden 120 mm H_2O angegeben.

Die von uns beobachtete physiologische Rhythmik des Sphincter Oddi geht, wie wir oben zeigten, häufig der Darmrhythmik parallel. Auch nach Rost, Klee und Klüpfel (zit. bei Mann u. Potter) soll die Galle in „Spurts" im Zusammen-

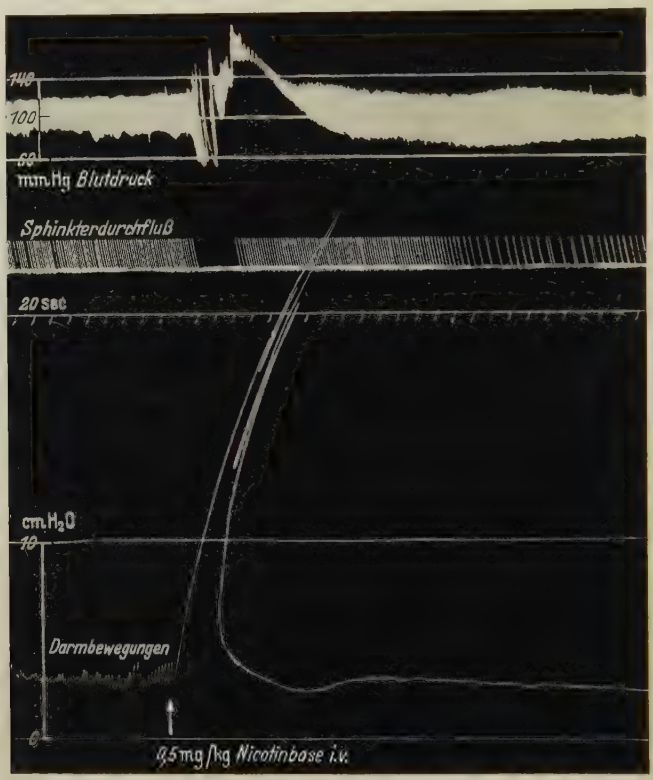


Abb. 8. Wirkung von Nicotin auf den Sphincter Oddi.

hang mit einer peristaltischen Welle in das Duodenum abgesondert werden. Bei bestimmten Tonuslagen des Sphincter Oddi ist es denkbar, daß die zusätzliche inspiratorische Druckerhöhung im Abdomen ausreicht, den kritischen Widerstand des Sphincter Oddi zu überwinden. Eine dementsprechende atemsynchrone Gallenabflußrhythmik fanden wir als vorübergehende Erscheinung bei zwei Versuchstieren. Nach Herrmann soll diesem Mechanismus beim Menschen eine größere physiologische Bedeutung zukommen.

Westphal hat mit schwacher Vagusreizung oder mit geringen Dosen von Pilocarpin eine Öffnung des Sphincter Oddi erzielt, mit starker Vagusreizung dagegen eine Schließung der Sphincter erhalten. Diese

Versuche haben wir an Tieren mit unterbundenem Magenpförtner nicht bestätigen können. Es ist jedoch denkbar, daß der Effekt einer Sphincteröffnung durch geringe Pilocarpindosen oder durch schwache Vagusreizung bei Westphal über eine Magensaftsekretion zustande kam. Da auch bei anderer Medikation an die Möglichkeit einer verstärkten Magensaftsekretion gedacht werden mußte, haben wir die Pylorusunterbindung als methodische Voraussetzung für unsere Versuche angesehen.

Um die von Westphal diskutierten Einflüsse des N. vagus auf die Tätigkeit des Sphincter Oddi überprüfen zu können, haben wir überdies viele Versuche auch an bivagotomierten Tieren vergleichsweise durchgeführt. Wir haben in keinem Falle eine abweichende medikamentöse Wirkung am Sphincter Oddi registrieren können. Unseres Erachtens kann demnach eine vom Halsvagus ausgehende Einflußnahme auf den Sphincter Oddi zumindest im Experiment am narkotisierten Tier nicht von wesentlicher Bedeutung sein.

Als Deutungsmöglichkeit für die am Sphincter Oddi spasmolytisch wirkenden Stoffe könnte auch eine eventuelle choleretische Wirksamkeit in Betracht kommen. Ein solcher Wirkungsmechanismus kann bei unseren Versuchen wohl mit Sicherheit ausgeschlossen werden, da der Ductus choledochus immer proximal unterbunden war und die spasmolytische Wirkung praktisch aller Stoffe nur wenige Sekunden nach der Injektion auftritt. In einigen Versuchen war die Gallenblase überdies drainiert worden, so daß eine eventuelle Drucksteigerung im Gallenwegssystem als auslösende Ursache für eine reflektorische Sphincteröffnung nicht in Frage kommen konnte.

Die Versuche mit Ganglien blockierenden Substanzen in wirksamer Dosierung führten zu keinem Effekt am Sphincter Oddi (vgl. Erdmann u. Henne), so daß auch diese Möglichkeit eines pharmakologischen Angriffspunktes für die von uns untersuchten Substanzen unsicher scheint.

Es bleiben demnach für die in Tab. 1 aufgeführten pharmakologischen Wirkungen am Sphincter Oddi noch folgende Möglichkeiten eines Angriffspunktes zu diskutieren:

1. Direkte Wirkungen auf die glatte Muskulatur des Sphincters mit oder ohne Beteiligung der „melkenden" Darmperistaltik.

2. Wirkungen auf efferente vegetative Nervenendigungen.

3. Wirkungen auf vegetative Afferenzen im Sinne einer Lähmung der für die Tonusregulierung des Sphincter Oddi bedeutungsvollen Receptorenfunktion.

Die Analyse dieser drei Angriffspunktmöglichkeiten ist bei den von uns geprüften Substanzen und mit der benutzten Methodik allein nicht möglich. Jedoch kann man durch den Vergleich dieser Ergebnisse mit den an anderen Versuchsobjekten erhaltenen dem Ziele näher kommen, wie wir es z. B. für Euphyllin versucht haben.

Zusammenfassung.

Es wird über pharmakologische Wirkungen am Sphincter Oddi berichtet. Untersucht wurden folgende Stoffgruppen: Parasympathicomimetica, Sympathicomimetica, Narcotica, Muskelrelaxantien, Spasmolytica bei intravenöser und zum Teil auch lokaler Applikationsart.

Die Besonderheiten der geprüften Pharmaka hinsichtlich ihrer Wirkungen auf den Schließmuskel, auf Blutdruck, Darm und Gallenblase werden besprochen. Es wird versucht, eine Analyse der möglichen Angriffspunkte vorzunehmen.

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen werden Schlüsse für die physiologische und klinisch-therapeutische Bedeutung sowie die funktionelle Sonderstellung des Sphincter Oddi gezogen.

Literatur.

Bayer, R.: Z. exper. Med. **105**, 702 (1939). — Bayer, R., Th. Günther u. L. Löhner: Pflügers Arch. **236**, 239 (1935). — Brugsch, Th., u. H. Horsters: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **118**, 305 (1926). — Erdmann, W.-D., u. H. F. Henne: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **1953** im Druck. — Erdmann, W.-D., u. H. Mercker: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 563 (1952). — Evans, F. T., P. W. S. Gray, H. Lehmann and E. Silk: Lancet **1952**, 1229. — Feldberg, W.: J. of Physiol. **113**, 483 (1951). — Gaenssler, E. A., and L. M. McGowan: J. of Pharmacol. **99**, 304 (1950). — Geissendörfer, R.: Chirurg **21**, 344 (1950). — Genuit, H., u. K. Labenz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 375 (1941). — Girndt, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 142 (1936). — Grossmann, M. I.: Physiologic. Rev. **30**, 58 (1950). — Gründfest, H., D. Nachmansohn, C. Y. Kao and R. Chambers: Nature (Lond.) **169**, 190 (1952). — Guyton, A. C., and R. G. Reeder: J. of Pharmacol. **98**, 188 (1950). — Haberland, H. F. O.: Z. exper. Med. **105**, 303 (1939). — Henne, H. F., u. W.-D. Erdmann: Klin. Wschr. **1953**, 174. — Herrmann, K. O.: Ärztl. Forschg., Wörishofen **1952**, 258 u. 261. — Ivy, A. C.: Physiologic. Rev. **14**, 1 (1934). — Kewitz, H., H. Remmer u. H. Engelhardt: Klin. Wschr. **1951**, 570. — Kremer, M.: Quart. J. Exper. Biol. **31**, 337 (1942). — Mainland, J. F., and F. H. Shaw: Nature (Lond.) **170**, 418 (1952). — Mann, F. C., and C. Potter: Amer. J. Med. Sci., New Series **171**, 202 (1926). — Marbury, B. E., J. F. Artusio, W. C. Wescoe and W. F. Riker: J. of Pharmacol. **103**, 280 (1951). — Lester, L. J., and R. Colp: Arch. Surg. **1952**, 64. — Leskovar, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 361 (1941). — Oettel, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 317 (1935). — Paris, J., J. Vanlerenberghe et M. Delmotte: C. r. Soc. Biol. Paris **145**, 110 (1951); ref. Ber. Physiol. **151**, 415 (1952). — Pelikan, E. W., and K. R. Unna: J. of Pharmacol. **104**, 354 (1952). — Salama, S., and S. Wright: Brit. J. Pharmacol. **7**, 14 (1952). — Schüpbach, A.: Schweiz. med. Wschr. **82**, 321 (1952). — Straub, W., u. E. Leo: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**, 18 (1933). — Tillier, J.: Sem. hôp., Paris **22**, 1494 (1947), — Varela-Fuentes, B., et J. Varela-Lopez: Bull. Soc. méd. Hôp. Paris **67**, 940 (1951). — Walters, W., L. M. McGowan, M. John and J. Knepper: J. Amer. Med. Assoc. **109**, 1591 (1937). — Westphal, K.: Klin. Wschr. **1924**, 1105.

Dr. W.-D. Erdmann, Pharmakol. Institut d. Univ. Göttingen, Geiststr. 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 479—482 (1953).

Aus dem Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz
(Chem. Abt.: Prof. Dr. F. Strassmann).

Weitere Untersuchungen über die reticuloendotheliale Clearance.

Histochemischer Nachweis von Polyphosphat.

IV. Mitteilung.

Von
K. Pfleger und M. Frimmer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. April 1953.)

Intravenös injiziertes Kalium-Natrium-Polyphosphat (PP) wird nach einer e-Funktion aus dem Blut eliminiert. Durch Ermittlung der Eliminationshalbwertszeit (EHZ) kann die Größenordnung dieser Eliminationsleistung festgelegt werden (Frimmer[1, 2]). Durch Blockierungsversuche konnte die Spezifität dieser Clearancefunktion für das RES wahrscheinlich gemacht werden (Frimmer[1, 3]). Dabei muß jedoch die Einschränkung gemacht werden, daß nur solche Organe des RES in wesentlichem Umfang eliminieren, die ihrer physiologischen Aufgabe entsprechend Filter des Blutes darstellen. Die Eliminationsorgane der Lymphe, die Lymphknoten, nehmen bei intravenöser Injektion nur wenig PP auf.

Zweck nachfolgender Ausführungen ist, die spezifische Ablagerung von PP in den Zellen des RES nachzuweisen. Als histologische Färbemethode eignet sich die von H. Stich für Metaphosphate beschriebene Reaktion mit Toluidinblau. Hochpolymere Phosphate vom Typ des Tammannschen Salzes fallen in Lösung nach Zugabe dieses Farbstoffes aus. Auf Filtrierpapier färben sich PP-Flecke noch in sehr niederen Konzentrationen rötlich an, während der PP-freie Untergrund die blaue Färbung des ursprünglichen Farbstoffes annimmt. Es war zu erwarten, daß PP histochemisch in Geweben durch diese Metachromasie dargestellt werden kann.

Experimenteller Teil.

Als Versuchstiere dienten etwa 150 g schwere Ratten. Die Tiere erhielten in Äthernarkose 0,5 cm³ PP-Lösung mit 7 mg PP (bezogen auf Glührückstand) in die Schwanzvene injiziert und wurden nach 30 min getötet. Leber, Milz, Niere, Lungen und Herz wurden in 10%iger Formollösung fixiert. Die daraus hergestellten Gefrierschnitte wurden nach

Färbung in 0,5%iger wäßriger Toluidinblaulösung (2 min) durch die Alkoholreihe in Caedax überführt. Zur photographischen Darstellung des im histologischen Schnitt rot angefärbten PP eignete sich ein Grünfilter in Verbindung mit dem Film Adox KB 14.

Ergebnisse.

Zellkerne und Protoplasma färben sich mit Toluidinblau blau an. In den Kupfferschen Sternzellen der Leberschnitte von PP-behandelten Tieren treten rote Granula auf (Abb. 1). Die Größe der Körnchen schwankt

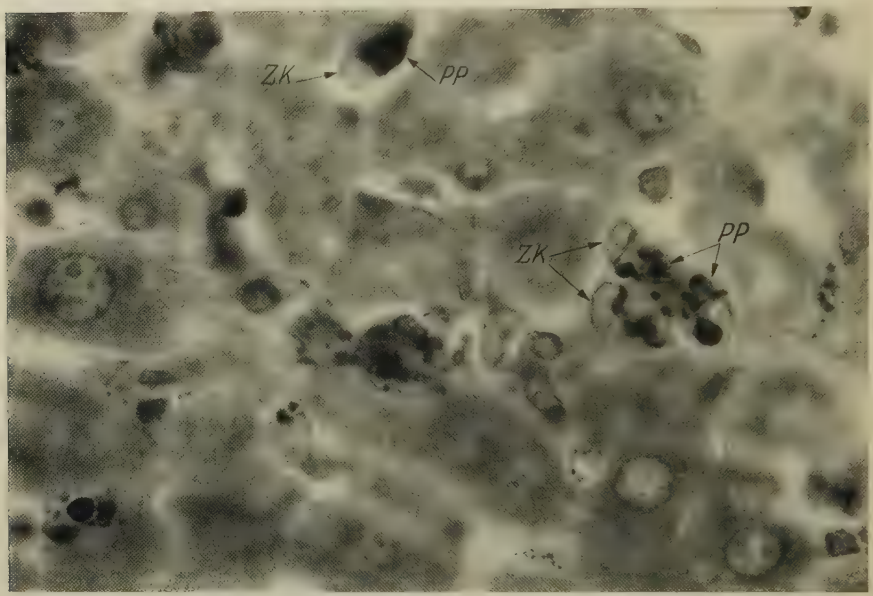


Abb. 1. Mit roten Granula gefüllte RES-Zellen in der Leber der Ratte 30 Minuten nach i.v. PP-Injektion. (Toluidinblaufärbung). *ZK* Zellkerne von RES-Zellen. *PP* PP-Granula.

zwischen der Sichtbarkeitsgrenze und Zellkerngröße und ist auch von der injizierten PP-Menge abhängig. Die großen Körner weisen teilweise noch im Innern Vacuolen auf. Bei manchen Zellen liegen die Granula deutlich an der Protoplasmaoberfläche, während andere RES-Zellen in so erheblichem Maße mit roten Granula überfüllt sind, daß der Zellkern zur Seite verdrängt erscheint. Leider lassen sich diese Einzelheiten infolge mangelnder Tiefenschärfe bei der zur Darstellung von Kupfferschen Sternzellen notwendigen Vergrößerung und wegen des mangelnden Kontrastes in der Schwarzweißphotographie nicht darstellen.

Die Übersichtsaufnahme Abb. 2 zeigt, daß die Größe und Häufigkeit der Granula in den Leberläppchen von der Peripherie zur Zentralvene hin abnimmt.

Weiterhin konnten Zellen mit roten Granula auch in der Glomeruli und massenhaft in der Milz nachgewiesen werden. In den Parenchymzellen der Leber und Milz, sowie anderer Organe ließ sich keine Rotfärbung nachweisen.

In Organschnitten von Kontrolltieren, die kein PP erhalten hatten, waren rote Granula nicht aufzufinden. Lediglich bei sorgfältigem Suchen findet man auch in den Organen der Kontrolltiere sehr vereinzelt metachromatisch angefärbte Zellen. Es dürfte sich hierbei um Mastzellen handeln.

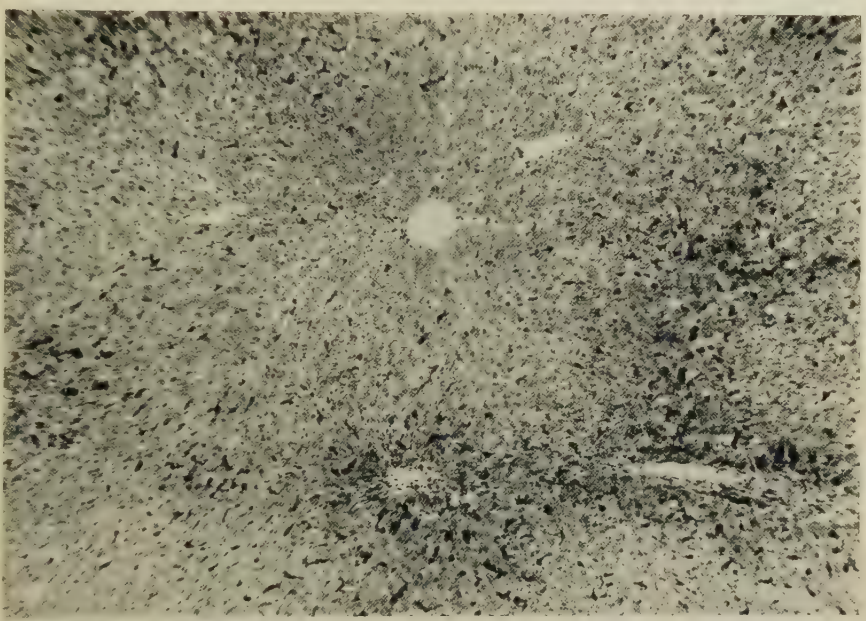


Abb. 2. Übersichtsbild, Schnitt durch ein Leberläppchen der Ratte nach PP-Injektion (Toluidinblaufärbung).

Nach intraperitonealer Injektion von PP findet man in der Peritonealflüssigkeit bei Phasenkontrastbeobachtung einkernige Zellen, deren Protoplasma mit Granula zum Teil so stark überfüllt ist, daß sie bei leichter mechanischer Beanspruchung durch ein Deckglas bereits zerfallen. Auch diese Granula färben sich mit Toluidinblau rot. Im Kontrollversuch sind diese Befunde nicht zu erheben.

Diskussion.

Da in den Kontrollversuchen, abgesehen von ganz vereinzelten Mastzellen, keine metachromatische Rotfärbung aufzufinden ist, kann mit Sicherheit angenommen werden, daß die metachromatischen Granula in den Zellen des RES durch das injizierte PP hervorgerufen werden.

Ob es sich hierbei allerdings um eine Speicherung von PP oder um eine PP-Eiweißverbindung handelt, kann nach den bisherigen Ergebnissen nicht ausgesagt werden. Dasselbe gilt für die Vacuolen im Innern der metachromatisch gefärbten Granula. Die Abnahme der Häufigkeit und Größe der Granula von der Peripherie der Leberläppchen zur Zentralvene hin ist durch den zur Zentralvene hin zunehmenden Durchmesser des Capillarlumens und die Konzentrationsabnahme des Capillarblutes in PP infolge der Elimination zu erklären. Eine ähnliche Anreicherung in der Peripherie der Leberläppchen findet sich übrigens auch nach Injektion kolloidaler Metalle (Pasalaqua).

Die zerfallenden, sich metachromatisch anfärbenden Zellen aus dem Peritonealausstrich deuten darauf hin, daß bestimmte Zellen des RES in der Lage sind, mehr PP aufzunehmen, als mit ihrem Leben zu vereinbaren ist.

Da außer in den Zellen des RES nach PP-Injektion in keiner anderen Zellart Metachromasie nachgewiesen werden konnte, ist die in früheren Mitteilungen behauptete spezifische Elimination von PP durch das RES als bewiesen anzusehen. Die histochemisch nachweisbare Verteilung von PP auf die einzelnen Organe stimmt mit den bereits veröffentlichten Werten aus radiochemischen Messungen überein.

Zusammenfassung.

Die spezifische Elimination von infiziertem Polyphosphat durch das RES wird histochemisch bewiesen. Durch Färbung mit Toluidinblau lassen sich nur in den Zellen des RES, insbesondere in den Kupfferschen Sternzellen metachromatische rote Granula nachweisen. Die Polyphosphatclearance ist für das RES spezifisch.

Literatur.

Frimmer, M.[1]: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 91 (1953). — Frimmer, M.[2]: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 313 (1953). — Frimmer, M.[3]: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 320 (1953). — Stich, H.: Z. Naturforschg. 8b, 37 (1953). — Pasalaqua: persönliche Mitteilung.

Dr. Karl Pfleger und Dr. Max Frimmer,
Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz, Saarstr. 23.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 218, S. 483—487 (1953).

Aus dem Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin (Direktor: Prof. W. Friedrich), Abteilung für Pharmakologie (Prof. F. Jung).

Beeinflussung der Einheilung von Homotransplantaten durch Kastration.

Sexualhormone und Hauttransplantation I.

Von

Peter Schäfer.

(Eingegangen am 8. April 1953.)

Hauttransplantate, die zwischen heterozygoten Individuen ausgetauscht werden, heilen auf die Dauer in etwa 10% der Fälle ein (Schäfer[1]) (über Einheilkriterien siehe Schäfer[2]). Die Versuche, den Prozentsatz der *Dauer*einheilung durch künstliche (pharmakolog. u. a.) Eingriffe an den Transplantaten oder den beteiligten Transplantationspartnern bemerkenswert zu erhöhen, sind fehlgeschlagen oder ihren Ergebnissen fehlt die nötige quantitative und statistische Sicherheit. Die quantitative Unsicherheit früherer Untersuchungen beruht auch oft auf einer unzweckmäßigen Wahl des Einheilkriteriums.

Man kann von der Vorstellung ausgehen, daß die Einheilung bei der Homotransplantation von der individuellen biologischen Beschaffenheit (Schöne[1, 2], Loeb[1, 2]) der Transplantationspartner abhänge. So ist zwischen Tieren eines Inzuchtstammes (homozygote Tiere) die Hautverpflanzung grundsätzlich erfolgreich (Schäfer[1], Loeb[3], McIndoe, Anderson), was auf der erbbiologischen Angleichung der Individuen eines solchen Stammes beruhen muß. Aus phylogenetisch-ontogenetischen Gründen muß man erwarten, daß in der Ontogenese erst die individuelle Beschaffenheit der Organismen aufgebaut wird. Ich nehme ferner an, daß die hormonellen „Prägungsstoffe" (Gudernatsch) bei der ontogenetischen Entwicklung der biologischen Individualität mitwirken. Auf diesen Vorstellungen fußen die folgenden Untersuchungen.

Methodik.

Neugeborene weibliche und männliche Ratten wurden spätestens 24 Std nach der Geburt kastriert. Die mikroskopische Identifizierung der frisch exstirpierten Keimdrüsen bestätigte die gelungene Operation. 3 Monate nach der Kastration wurde ein Lappen der Bauchhaut von 490 mm² frei verpflanzt. Auf die technischen Einzelheiten, die Beobachtungszeit (60 Tage) und das Einheilkriterium (Haarwuchs gegen den Strich usw.) bin ich früher eingegangen (Schäfer[3]). Die 60 Tage nach der Operation gemessene eingeheilte Fläche verändert sich später im allgemeinen nicht mehr (Schäfer[2]).

Die hinreichend dünnen Bauchhautlappen heilen praktisch in allen Fällen mit einer gewissen Mindestfläche ein, wenn sie autoplastisch verpflanzt werden, dagegen nur in etwa 10% der Fälle, wenn sie zwischen heterozygoten Tieren ausgetauscht werden. Bei 38 nicht kastrierten und bei 52 kastrierten Tieren wurden die Hautlappen in den Ort der Entnahme wieder eingenäht (Autotransplantation, Replantation). Bei 64 nicht kastrierten und 60 kastrierten Tieren wurden die Lappen zwischen den Partnern ausgetauscht (Homotransplantation). Die kastrierten homotransplantierten Tiere sollten mit den kastrierten autotransplantierten und mit den nicht kastrierten homotransplantierten Tieren und dann diese drei Reihen mit den nicht kastrierten autotransplantierten Tieren verglichen werden. Wegen der Einheitlichkeit des Materials haben wir nur Tiere der F_1-Generation verwandt und die Homotransplantate zwischen gleichgeschlechtlichen Wurfgeschwistern ausgetauscht. Die Tiere waren also nicht mehr streng heterozygot. Es mußte nun geprüft werden, ob in der F_1-Generation zwischen Wurfgeschwistern eine erbbiologische Angleichung eingetreten war, die das durchschnittliche Einheilergebnis bei der Homotransplantation hätte beeinflussen können: Die durchschnittliche Einheilfläche bei homoplastischer Verpflanzung zwischen gewöhnlichen Tieren der F_1-Generation war von der mittleren Einheilfläche einer streng heterozygoten Homotransplantationsreihe nicht verschieden (Tab. 1).

Tabelle 1. *Vergleich der Einheilergebnisse bei der Homotransplantation zwischen heterozygoten Tieren und Wurfgeschwistern der F_1-Generation.*

	Anzahl der Tiere	Anzahl der Einheilungen	relative Häufigkeit der Einheilungen	Differenz der relat. Häufigkeiten	(erlaubte) maximale Grenzdifferenz	mittlere Einheilfläche in mm²	mittlerer Fehler des Mittelwertes	Differenz der Mittelwerte	(erlaubte) maximale Grenzdifferenz
Homotransplantation									
Zwischen heterozygoten Partnern .	51	4	8%	6%	23,5%	40	14,5		
Zwischen Wurfgeschwistern der F_1-Generation	65	9	14%			31	11		

Für die Kastration mußte nachgewiesen werden, ob sie nicht schon eine Beeinflussung der Autotransplantation bedinge.

Ergebnis.

1. Ich habe die Auswertung unter zwei Gesichtspunkten vorgenommen: Erstens habe ich die Versuchsreihe beurteilt nach der Häufigkeit der Treffer, d. h. ich habe sie charakterisiert durch die *relative Häufigkeit*

der als eingeheilt zu bezeichnenden Transplantate. Zweitens habe ich die Versuchsreihen nach Ausmessen der eingeheilten Fläche in Quadratmillimeter als *Meß*reihen betrachtet und sie durch den arithmetischen Mittelwert und seinen mittleren Fehler gekennzeichnet.

2. Bei autotransplantierten nicht kastrierten Tieren und autotransplantierten kastrierten Tieren beiderlei Geschlechts ist die Häufigkeit der eingeheilten Lappen praktisch gleich und beträgt 100%. Der Vergleich der mittleren Einheilfläche beider Reihen zeigt dagegen einen deutlichen Unterschied:

Nach der statistischen Prüfung ist diese Differenz der mittleren Einheilflächen größer als die für zufällige Abweichungen noch erlaubte Grenzdifferenz (σ-Diff.) (Tab. 2). Das Fehlen der Keimdrüsenhormone führt unter den vorliegenden Versuchsbedingungen zu einer Verbesserung der mittleren Einheilfläche bei autotransplantierten Hautlappen. Vielleicht äußert sich hierin eine Umstellung des Hautwachstums überhaupt, die die Transplantate unabhängig von dem Einheilvorgang größer werden läßt als bei nicht kastrierten Tieren.

Tabelle 2. *Vergleich der Einheilergebnisse zwischen Autotransplantation und Homotransplantation bei nicht kastrierten und kastrierten Tieren.*

	Anzahl der Tiere	Anzahl der Einheilungen	relative Häufigkeit der Einheilungen	Differenz der relat. Häufigkeiten	(erlaubte) maximale Grenzdifferenz	mittlere Einheilfläche in mm²	mittlerer Fehler des Mittelwertes	Differenz der Mittelwerte	(erlaubte) maximale Grenzdifferenz
Autotransplantation									
Nicht kastrierte R.	38	38	100%			233	8,2	51	47
Kastrierte R. . . .	52	51	98%			284	12,5		
Homotransplantation									
Nicht kastrierte R. .	64	9	14%	28%	22%	31	11	75	40
Kastrierte R. . . .	60	25	42%			106	7,8		

3. Die im autoplastischen Verfahren immer einheilenden (dünnen) Bauchhautlappen heilen bei der Homotransplantation zwischen nicht verwandten (heterozygoten) Ratten und zwischen Wurfgeschwistern der F_1-Generation mit praktisch der gleichen Häufigkeit von 8 bzw. 14% ein. Auch die mittleren Einheilflächen beider Versuchsreihen unterscheiden sich kaum (Tab. 1):

In der F_1-Generation ist gegen die heterozygote P-Generation keine erbbiologische Angleichung, die die Einheilchance von Homotransplantaten wesentlich beeinflußte, festzustellen. Die Schlüsse, die aus Versuchen mit F_1-Tieren in diesem Zusammenhang gezogen werden, können dann auch für nicht verwandte Tiere gelten.

4. Die Kastration am Tage der Geburt bei Tieren der F_1-Generation beiderlei Geschlechts führt zu einem deutlichen Anstieg der Einheilhäufigkeit von Homotransplantaten. Die Differenz der Einheilhäufigkeit zwischen homotransplantierten nicht kastrierten und homotransplantierten kastrierten Tieren beträgt 28%. Die noch für zufällige Abweichungen erlaubte Grenzdifferenz beträgt 22,4%. Auch für die mittleren Einheilflächen läßt sich nachweisen, daß sie verschiedenen Grundgesamtheiten angehören (Tab. 2):

Die Kastration am Tage der Geburt führt zu einer bestimmten „Einstellung" organismischer Bedingungen, die der Homotransplantation günstig sind. Ob eine Verwischung oder Aufhebung der biologischen Individualität eingetreten ist, wird durch den Befund noch nicht erwiesen, obschon diese Hypothese zu diesem Befund führte.

Die Auswirkungen der Kastration auf Auto- und Homotransplantation möchte ich auf getrennte Ursachenkomplexe zurückführen. Für die erfolgreiche Homotransplantation müssen bestimmte Bedingungen vorliegen, die für die erfolgreiche Autotransplantation belanglos sind (SCHÄFER[1]).

Tabelle 3. *Vergleich der Einheilergebnisse zwischen Autotransplantation und Homotransplantation nach Auftrennung in die Geschlechter.*

		Anzahl der Tiere	Anzahl der Einheilungen	relative Häufigkeit der Einheilungen	Differenz der relat. Häufigkeiten	(erlaubte) maximale Grenzdifferenz	mittlere Einheilfläche in mm²	mittlerer Fehler des Mittelwertes	Differenz der Mittelwerte	(erlaubte) maximale Grenzdifferenz
Autotransplantation										
Nicht kastrierte R.	♀	11	11	100%			228			
	♂	27	27	100%			236			
Kastrierte R.	♀	27	26	96%			267	17	38	75
	♂	25	25	100%			305	15		
Homotransplantation										
Nicht kastrierte R.	♀	31	5	16%			41	18		
	♂	33	4	12%			22	11		
Kastrierte R.	♀	19	11	58%	24%	36%	144	33	56	127
	♂	41	14	34%			88	21		

5. Ich habe zu prüfen versucht, ob den weiblichen *oder* den männlichen Keimdrüsenhormonen eine bevorzugte Bedeutung zukommt. Die Aufteilung nach den Geschlechtern (Tab. 3) zeigt für die Autotransplantation keinen Unterschied in der Einheilhäufigkeit. Dagegen zeichnen sich männliche, am Tage der Geburt kastrierte Ratten durch eine hohe mittlere Einheilfläche aus. Die statistische Überprüfung erweist jedoch

den Unterschied zwischen weiblichen und männlichen Tieren als unecht, erlaubt jedenfalls der geringen Tierzahl wegen noch keine bindenden Schlüsse: Die vorliegenden Daten können für die weiblichen *oder* für die männlichen Keimdrüsenhormone keine bevorzugte Einflußnahme nachweisen.

Auch für die Homotransplantation liegt der Unterschied zwischen den mittleren Einheilflächen weiblicher und männlicher kastrierter Ratten (Tab. 3) im Bereich der zufällig möglichen Mittelwertschwankung.

Diese wichtige Frage darf, wegen der geringen Anzahl der Tiere, noch nicht als abgeschlossen gelten.

Zusammenfassung.

Ratten beiderlei Geschlechts wurden am Tage der Geburt kastriert. Im Alter von 3 Monaten wurden Bauchhautlappen autoplastisch und homoplastisch verpflanzt. Bei kastrierten Tieren heilten Autotransplantate mit einer größeren mittleren Einheil*fläche* bei gleicher Einheil*häufigkeit* ein. Homotransplantate heilen bei kastrierten Tieren mit einer 3fach höheren Einheil*häufigkeit und* Einheil*fläche* ein. Die statistischen Berechnungen sind nach Koller durchgeführt.

Literatur.

Anderson, D., R. E. Billingham, G. H. Lampkin and P. B. Medawar: Heredity (Edinburgh) **5**, 379 (1951). — Gudernatsch, F.: Hdb. d. inn. Sekretion II, 1493 (1930). — Koller, S.: „Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen", Leipzig, 1943. — Loeb, L.[1]: J. Med. Res., Boston **38**, 393 (1918). — Loeb, L.[2]: „The biological basis of individuality", Springfield J11. 1947. — Loeb, L.[3]: Amer. J. Path. **3**, 143 (1927). — McIndoe, A., and A. Franceschetti: Brit. J. Plast. Surg. **2**, 283 (1950). — Schäfer, P.[3]: Virchows Arch. **317**, 484 (1949). — Schäfer, P.[1]: Virchows Arch. **320**, 397 (1951). — Schäfer, P.[2]: Dtsch. Gesdh. wes. 7 Jg., 490 (1952). — Schöne, G.[1]: Naturwiss. **1**, 489 (1913). — Schöne, G.[2]: Zbl. Chir. **1941**, Nr. 32.

Dr. Dr. Peter Schäfer, Berlin-Buch, Deutsche Akademie der Wissenschaften, Inst. f. Med. u. Biol.